



РОССИЙСКИЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНГРЕСС

23-27 сентября 2019
Саранск



МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА

www.microbiology-congress.ru

ОРГАНИЗАТОРЫ



**МЕЖРЕГИОНАЛЬНОЕ
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО**



**НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МОРДОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ**



СОДЕРЖАНИЕ

ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Горленко В.М.	18
Новые данные об экологии и разнообразии хлорофототрофов филума Chloroflexi	
Дрюккер В.В., Горшкова А.С.	18
Автохтонные бактериофаги озера Байкал	
Габитов А.Г., Смирнов И.В., Белогуров А.А., Степанов А.В., Мокрушина Ю.А., Терехов С.С.	19
Скрининг биоразнообразия	
Слободкин А.И.	20
Разнообразие термофильных литоавтотрофных микроорганизмов	
Наумова Е.С.	20
Генетика и систематика аскомицетовых дрожжей	
Щеголев С.Ю.	21
Разнообразие и систематика прокариот: мировой опыт и лабораторная практика	

МИКРОБНАЯ БИОГЕОХИМИЯ

Пименов Н.В.	22
Микробная биогеохимия Черного моря	
Карначук О.В., Равин Н.В.	23
Новые микроорганизмы цикла серы из подземной биосферы	
Ривкина Е.М.	23
Биогеохимические процессы в вечномерзлых отложениях	
Земская Т.И.	24
Что мы знаем о микробных сообществах озера Байкал	
Саввичев А.С., Леин А.Ю.	25
Микробные процессы и их геохимические последствия в морских и пресноводных водоемах Арктики	
Бархутова Д.Д.	26
Геохимическая деятельность микроорганизмов гидротерм Байкальской рифтовой зоны	



МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Лапидус А.Л.	27
Биоинформатика микромира	
Равин Н.В., Кадников В.В., Марданов А.В., Карначук О.В.	27
Метагеномика как инструмент изучения некультивируемых микроорганизмов	
Кочкина Г.А., Антипова Т.В., Желифонова В.П., Козловский А.Г., Иванушкина Н.Е., Тарлачков С.В., Озерская С.М.	28
Метаболиты грибов полярных регионов	
Ивановский Р.Н.	29
Углеродный метаболизм аноксигенной нитчатой фототрофной бактерии <i>Oscillochloris thrichoides</i> DG-6 и возможные пути эволюции аноксигенных фототрофов порядка <i>Chloroflexales</i>	
Грабович М.Ю., Тарлачков С.В.	30
Биоразнообразие новых нитчатых представителей семейства <i>Beggiatoaceae</i> и анализ их геномов для выявления метаболического потенциала	
Гаврилов С.Н., Елизаров И.М., Кубланов И.В., Подосокорская О.А., Соколова Т.Г., Слободкина Г.Б., Тихонова Т.В., Лопатин С.А., Тощак С.В., Бонч-Осмоловская Е.А.	31
Внеклеточный перенос электронов у термофильных прокариот: разнообразие механизмов и экологических функций	

МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Ревин В.В., Guang Yang, Muhammad Wajid Ullah, Лияськина Е. В., Пестов Н.А., Новокупцев Н.В., Долганов А.В.	32
Перспективы использования микробных экзополисахаридов для получения функциональных материалов нового поколения	
Соловченко А.Е., Лобакова Е.С.	32
Микроводоросли в фотобиотехнологии: глобальные вызовы и новые возможности	
Фоменков А.	33
Новые технологии для анализа бактериальных метиломов: SMRT сиквенс; метиломный анализ и 5mC специфичные ферменты	
Каюмов А.Р.	33
Новые подходы к эрадикации биопленок золотистого стафилококка	
Карлос Баррейро, Мариана Фи, Оскар Веласко-Родриге, Антонио Родригес-Гарсиа, Алберто Сола-Ланда	34
Актинобактерии: колоссальный ресурс промышленных применений	
Carlos Barreiro, Mariana Fil, Óscar Velasco-Rodríguez, Antonio Rodríguez-García, Alberto Sola-Landa	35
Actinobacteria: a huge source of industrial applications	
Васильева Н.В.	36
Антимикробный потенциал бактерий рода <i>Lysobacter</i>	



СЕКЦИЯ: РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Перевалова А., Меркель А., Кубланов И., Бонч-Осмоловская Е.	37
Новые термофильные археи из горячих источников Камчатки: экология и метаболизм	
Паршина С.Н., Груздев Д.С., Кострикина Н.А., Стрепис Н., Соуза Д., Стамс А., Ножевникова А.Н.	37
Психотолерантные анаэробные микроорганизмы из низкотемпературных антропогенных мест обитания	
Плотников А.О., Селиванова Е.А., Пошвина Д.В., Герасимова Е.А., Хлопко Ю.А.	38
Структура сообществ и разнообразие протистов в соленых водоемах Приуралья и Приэльтона	
Турова Т.П., Соколова Д.Ш., Назина Т.Н., Груздев Д.С., Лаптев А.Б.	39
Филогенетическое разнообразие микробных сообществ с поверхности полиэтилентерефталатных материалов при экспозиции в водных средах различного происхождения	
Банзаракцаева Т.Г., Дамбинова Е.Ц.	40
Разнообразие микробного сообщества донных осадков холодных источников Буксыхен (Северное Прибайкалье)	
Кудинова А.Г., Петрова М.А., Маслова О.А.	41
Таксономическое разнообразие фильтрующих форм прокариот в почвах Восточной Антарктики	
Дедыш С.Н., Куличевская И.С., Иванова А.А., Филиппов Д.А.	42
Вековая загадка планктомицетов разгадана: идентификация типового рода и вида, <i>Planctomyces bekefii</i>	
Кашкак Е.С., Данилова Э.В., Бархутова Д.Д.	42
Структура микробного сообщества воды минерального источника Чойган	
Гайсин В.А., Kooger R., Груздев Д.С., Pilhofer M., Горленко В.М.	43
Новые данные об ультраструктурной организации аноксигенных нитчатых многоклеточных фототрофных бактерий	
Козяева В.В., Дзюба М.В., Узун М.М., Алексеева Л.М., Груздев Д.С.	44
Молекулярная экология, таксономия и геномика пресноводных магнитотаксических бактерий	
Летаров А.В., Бабенко В.В., Куликов Е.Е., Голомидова А.К., Летарова М.А., Спасская Н.Н. ..	45
Сообщество бактериофагов в кишечном микробиоме лошади	
Лаврентьева Е.В., Эрдынеева Е.Б., Раднагуруева А.А., Дунаевский Я.Е.	46
Термоакалофильные и галоалкалофильные бактерии продуценты пептидаз	
Панкратов Т., Груздев Д., Качалкин А.	46
Микробные сообщества лишайников: разнообразие, динамика и метаболизм	
Белых О.И., Галачьянц А.Д., Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В.	47
Состав и структура микробных сообществ в оз. Байкал: поверхностный микрослой воды, водная толща, донные биопленки и эндемичные губки	



Лысак Л.В., Лыпыгина Е.В., Чекин М.Р, Бадмадашиев Д.В.48
[Обилие и разнообразие бактерий и бактериофагов в почвах Российской Арктики](#)

Михайлов И.С., Захарова Ю.Р., Галачьянц Ю.П., Букин Ю.С., Петрова Д.П.,
Усольцева М.В., Сакирко М.В., Лихошвай Е.В.49
[Взаимосвязи и сукцессия сообществ бактерий и микроэукариот в пелагиали озера Байкал](#)

Узун М.М., Алексеева Л.М., Круткина М.С., Козяева В.В., Груздев Д.С.50
[Новые магнитотактические бактерии, обнаруженные в метабеномах открытых баз данных](#)

Минаев Н.В., Манучарова Н.А., Певзнер М.М.51
[Прокариотное сообщество вулканической слоисто-охристой почвы полуострова Камчатка](#)

СЕКЦИЯ: МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

Заварзина Д.Г., Кочеткова Т.В., Чистякова Н.И., Грачева М.В., Меркель А.Ю.,
Передалова А.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Бычков А.Ю., Гаврилов С.Н.52
[Анаэробное окисление сидерита термофильным микробным сообществом в автотрофных условиях](#)

Кононенко Г.П., Буркин А.А.53
[Токсичные метаболиты микромицетов в растениях: новые данные и гипотезы](#)

Кадников В.В., Белецкий А.В., Марданов А.В., Франк Ю.А., Карначук О.В., Равин Н.В.54
[Геномный анализ некультивируемых бактерий кандидатного филума Microgenomates из подземных термальных вод](#)

Бухтиярова П.А., Иванов М.В., Анциферов Д.В., Глухова Л.Б., Иккерт О.П., Карначук О.В.54
[Выделение *Desulfovibrio* из микробиома пациента с аутизмом и изучение возможностей связи его активности с дисбалансом железа](#)

Саралов А.И.55
[Возникновение генетического кода: факторы отбора протобиомонеров при коэволюции кодонов и путей синтеза аминокислот](#)

Шапиро Т.Н., Дольникова Г.А., Лобакова Е.С.56
[Детекция генов окисления н-алканов у штаммов бактерий, выделенных из образцов автомобильного и реактивного топлив](#)

Щербакова В.А., Трубицын В.Э., Трошина О.Ю., Рыжманова Я.В.56
[Анаэробные прокариоты из вечной мерзлоты: уроки анализа геномов](#)

Гоголев Ю.В., Исмаилов Т.Т., Осипова Е.В., Балкин А.С., Савастьянов А.С., Гоголева Н.Е.57
[Картирование сайтов инициации транскрипции и профилирование полных транскриптомов бактерий в культурах и патосистемах](#)

Попова А.А., Семашко Т.А., Кокшарова О.А.58
[Действие небелковой аминокислоты БМАА на экспрессию генов клеточной дифференцировки и азотного метаболизма в цианобактерии *Anabaena* sp. PCC 7120](#)



Октябрьский О.Н., Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Музыка Н.Г., Ушаков В.Ю.	59
Связь между стресс-индуцированными скачками Eh и аккумуляцией экстраклеточного H₂S в аэробных культурах Escherichia coli	
Розова О.Н., Хмеленина В.Н.	60
Роль малик-фермента в метаболизме C3- и C4- соединений у облигатных метанотрофов	
Яруллина Д.Р., Анисимова Е.А., Горохова И.В., Каримуллина Г.Р., Алкубайли Р.И.	60
Антибиотикорезистентность пробиотиков: полезность и опасность	
Турковская О.В.	61
Влияние полициклических ароматических углеводов на взаимодействия микроорганизмов с растениями	
Брюханов А.Л.	62
Системы антиокислительной защиты в клетках сульфатредуцирующих бактерий	
Потапов С.А., Тихонова И.В., Краснопеев А.Ю., Кабилов М.Р., Тупикин А.Е., Белых О.И.	63
Анализ двух вирионов оз. Байкал	
Василенко О.В., Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Малов В.О., Логачева М.Д., Озерская С.М.	64
Филогеномика класса Leotiomyces O.E. Ericsson & Winka	
Тугарова А.В., Мамченкова П.В., Камнев А.А.	65
Трансформация селенит-ионов бактериями рода Azospirillum с образованием селеновых наночастиц	
Чернова Л.С., Каюмов А.Р., Вишняков И.Е.	65
Конкуренция между N- и C- терминальными доменами регулирует процесс олигомеризации и шаперонной активности малого белка теплового шока IBPA из Acholeplasma laydlawii	

СЕКЦИЯ: МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Нетрусов А., Тепляков В., Цодиков М.	66
Конверсия лигноцеллюлозных субстратов в моторное топливо с помощью микробных мембранных и каталитических технологий	
Атыкян Н.А., Ревин В.В., Кадималиев Д.А.	67
Ферменты ксилотрофного гриба Lentinus tigrinus BKM F-3616D как перспективные агенты в деполимеризации растительного сырья, используемого в получении биоэтанола	
Коллеров В.В., Шутов А.А., Донова М.В.	68
Структурная модификация 3-оксостероидов мицелиальными грибами	
Хижняк Т.В., Брюханов А.Л.	69
Восстановление Cr(6+) сульфатвосстанавливающими и галоалкалофильными бактериями: перспективы биоремедиации загрязненных стоков	
Паршуков А.Н., Фокина Н.Н., Суховская И.В., Канцерова Н.П.	70
Бактериальные и биохимические показатели у садковой форели, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), как индикаторы раннего развития инфекции	



Шутова В.В., Ревин В.В., Сафонов А.В., Панкратова Е.А., Тараканова А.Е.	71
Новые полифункциональные материалы на основе бактериального левана <i>Azotobacter vinelandii</i>, для очистки промышленных стоков от радионуклидов и тяжелых металлов	
Гавенко А.А., Бухтиярова П.А., Грассер Г., Глухова Л.Б., Кадников В.В., Равин Н.В., Пименов Н.В., Карначук О.В.	71
Анаэробные <i>Desulfosporosinus</i> активны в высоко окисленных шахтных дренажах	
Лисов А.В., Белова О.В., Лисова З.А., Самойленко В.А., Андреева-Ковалевская Ж.И., Захарова М.В., Шадрин А.М., Леонтьевский А.А.	72
Получение новых ферментных препаратов методом геномного поиска	
Бабич Т.Л., Сафонов А.В., Соколова Д.Ш., Турова Т.П., Груздев Д.С., Меркель А.Ю., Полтараус А.Б., Захарова Е.В., Назина Т.Н.	73
Микробное сообщество и in situ биоремедиация подземных вод от нитратов в зоне поверхностного хранилища жидких радиоактивных отходов	
Ибрагимова С.А., Ревин В.В.	73
Оптимизация условий культивирования консорциума микроорганизмов и оценка их свойств	
Федорова Т.В., Глазунова О.А., Моисеенко К.В., Шахова Н.В., Васина Д.В., Савинова О.С., Псурцева Н.В.	74
Лигноцеллюлолитический комплекс дереворазрушающих базидиомицетов порядка Polyporales: первичные vs вторичные ксилотрофы	
Васильева А.В., Сидорова Н.А.	75
Сравнительный анализ технологических свойств природных штаммов <i>Lactobacillus sp.</i>, как потенциальных кандидатов пробиотических культур	
Николаев Ю.А., Сидоренко С.В., Манзенюк О.В., Тутельян А.В., Кязимов Э.И., Эль-Регистан Г.И.	76
Новый тип бинарных антимикробных препаратов: повышение эффективности антибиотиков и минимизация развития антибиотикорезистентности	
Лияськина Е.В., Ревин В.В., Сапунова Н.Б., Богатырева А.О., Лияськина А.Ю.	77
Продуценты бактериальных экзополисахаридов	
Карпов М.В., Стрижов Н.И., Замалутдинов А.В., Федоров Д.Н., Шутов А.А., Донова М.В. ..	77
Реконструкция холестерингидроксилазной/лиазной ферментной системы бычьей коры надпочечников в метилобактериях	
Беловежец Л.А., Третьякова М.С., Маркова Б.А., Ознобихина Л.П.	78
Состав и свойства биосурфактантов, продуцируемых микроорганизмами-нефтедеструкторами	
Попова Н.М., Сафонов А.В., Соколова Д.Ш., Бабич Т.Л.	79
Микробные биопленки на породах верхних водоносных горизонтов вблизи хранилища радиоактивных отходов	
Шадрин А.М., Пилигримова Э.Г., Байчер С.Д., Кулябин В.А., Казанцева О.А.	80
Перспективы использование генетического материала вирусов бактерий	



КРУГЛЫЙ СТОЛ: ПОЧВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Степанов А.Л., Сошникова Е.А., Манучарова Н.А., Кожевин П.А.	81
Новые процессы микробной трансформации азота в почвах как источник парниковых газов	
Семенов М.В., Никитин Д.А.	82
Агрогенная эвтрофикация почвы как причина перестройки микробного сообщества ризосферы сельскохозяйственных культур	
Никитин Д.А., Семенов М.В., Тхакахова А.К., Чернов Т.И., Ксенофонтова Н.А., Железова А.Д., Иванова Е.А., Кутовая О.В.	83
Влияние минимальной обработки почвы на сообщества микромицетов в агрочерноземах	
Манучарова Н.А.	84
Разнообразие и биотехнологический потенциал прокариотной гидролитической почвенной компоненты	
Чернов Т.И., Железова А.Д., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Никитин Д.А., Кутовая О.В. ...	84
Динамика микробных сообществ почвы в различных масштабах времени	
Пинчук И.П., Манучарова Н.А.	85
Оценка метаболически активного микробного комплекса прикорневой зоны ячменя обыкновенного (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	

КРУГЛЫЙ СТОЛ: КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ

Дедыш С.Н., Куличевская И.С., Иванова А.А., Филиппов Д.А.	86
Новые тенденции в систематике прокариот	
Пименов Н.В.	86
Перспективы развития микробиологических коллекций в России	
Леонтьевский А. А., Евтушенко Л. И.	87
Коллекции микроорганизмов: современное состояние и новые вызовы	
Мулюкин А.Л.	88
Способы длительного выживания неспорообразующих бактерий: фундаментальное и прикладное значение	
Иванушкина Н.	89
Опыт гарантированного сохранения жизнеспособности мицелиальных грибов ВКМ	

СЪЕЗД МЕЖРЕГИОНАЛЬНОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

Колотилова Н.Н.	89
Русские микробиологи в Институте Пастера	



СТЕНДОВАЯ СЕССИЯ

Аксенов А.С., Юницына О.А., Пучнина А.А.	90
1. Практическое использование бактериальной ксиланазы в химико-лесном комплексе	
Аксенов-Грибанов Д.В., Краснова М.Е., Переляева Е.В., Лубяга Ю.А., Золотовская Е.Д., Васильева Е.А., Тимофеев М.А.	91
2. Оценка воздействия кислорода на актинобактерий озера Байкал	
Александрова К.Д., Петрова О.Е., Горшков В.Ю., Гоголев Ю.В.	92
3. Формирование RPOS-независимой устойчивости при стрессе у <i>Pectobacterium atrosepticum</i> Scri 1043	
Алексеева Л.М., Узун М.М., Козяева В.В., Круткина М.С., Груздев Д.С.	92
4. Сообщество магнитотактических бактерий болотно-торфяной почвы	
Алехова Т.А., Александрова А.В., Новожилова Т.Ю., Загустина Н.А.	93
5. Системный мониторинг микобиоты в экстремальных условиях герметизированной экосистемы российского сегмента международной космической станции	
Алехова Т.А., Воробьева Е.А., Горленко М.В.	94
6. Экологический мониторинг РС МКС	
Аникина Н.А., Викулова А.С., Смирнов В.Ф.	95
7. Оценка резервно-адаптационный потенциал гриба <i>Aspergillus terreus</i> при культивировании на средах различного состава	
Анисимова Е.А., Горохова И.В., Каримуллина Г.Р., Алкубайли Р. И., Яруллина Д.Р.	95
8. Антибиотикорезистентность пробиотиков: полезность и опасность	
Белова С.Э., Салтыкова В.А., Куличевская И.С., Иванова А.А., Дедыш С.Н.	96
9. Анализ антимикробных свойств нового планктомицета группы <i>Pirellula</i>	
Башенхаева М.В., Захарова Ю.Р., Копырина Л.И., Лихошвай Е.В.	97
10. Бактериальные сообщества ультрапресных озер в районе полюса холода, Оймяконский район, Якутия	
Брагин Е.Ю., Щелкунов М.И., Штратникова В.Ю., Довбня Д.В., Донова М.В.	98
11. Новый транскрипционный фактор контролирующей экспрессию генов стероидного катаболизма у актинобактерий	
Бугеро Н.В., Ильина Н.А.	98
12. Молекулярно-генетические основы взаимодействия <i>E. faecalis</i> в симбиозе с простейшими <i>Blastocystis</i> spp. in vitro	
Булаев А.Г.	99
13. Изменение состава микробной популяции реакторов биоокисления сульфидного концентрата в зависимости от условий процесса	
Ванькова А.А., Маланкина Е.Л., Жаркова Е.К.	100
14. Антимикробные агенты: потенциал эфирного масла тимьяна обыкновенного в качестве экологически безопасного биоцида	



Власова А.П.	101
15. Характеристика прокариотного сообщества чернозема при повышенном содержании хлоридов и нитратов	
Волкова А.С., Арзамасцева А.А., Костенко В.В., Яруллина Д.Р., Каюмов А.Р.	101
16. Новая модель оценки антагонистической активности лактобацилл in vivo в <i>Drosophila melanogaster</i>	
Воробьев Н. И., Носевич М.А., Пухальский Я.В., Лоскутов С.И., Шапошников А.И., Свиридова О.В., Пищик В.Н.	102
17. Фрактальный анализ состава экзометаболитов льна-долгунца при взаимодействии с симбиотическими бактериями препарата агрофил	
Гайсина Д.Ф., Ильясов П.В., Макурина О.Н.	103
18. Получение метаболических профилей бактерий при помощи регистрации их респираторной активности in vivo	
Глухова Л.Б., Франк Ю.А., Карначук О.В.	103
19. Новые <i>Penicillium</i> образуют внеклеточные везикулы в ответ на воздействие меди	
Голомидова А.К., Куликов Е.Е., Летаров А.В.	104
20. Важная роль О-антигена бактерий-хозяев для культивации бактериофагов	
Ельченинов А.Г., Тоцаков С.В., Бонч-Осмоловская Е.А., Кубланов И.В.	105
21. Исследование метаболизма планктомицетов из класса <i>Phycisphaerae</i> с использованием сравнительной геномики	
Еникеев Р., Захарчук Л.М., Татарина Н.Ю., Алехова Т.А.	105
22. Устойчивость к антибиотикам штамма <i>Bacillus licheniformis</i>, выделенного на борту международной космической станции	
Ждид Гадир, Шах Махмуд Раихан	106
23. Характеристика взаимодействия бактериофагов с хозяином	
Железова А.Д., Чернов Т.И., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Никитин Д.А., Семенов М.В., Иванова Е.А., Кутовая О.В.	107
24. Сезонные изменения микробного сообщества дерново-подзолистой почвы	
Зайцева С.В., Цыденова Б.В., Дагурова О.П., Козырева Л.П., Бурюхаев С.П., Дамбаев В.Б.	107
25. Экология микробных сообществ пресных озер Бурятии	
Захарычева А.П., Евтушенко Л.И., Кубланов И.В., Хижняк Т.В.	108
26. Новые галоалкалофильные актинобактерии-гидролитики, выделенные из содовых солончаков Центральной Азии	
Захарюк А.Г., Щербакова В.А.	109
27. Фенотипический и генотипический анализ новой факультативно-анаэробной бактерии, выделенной из холодного источника	
Заюлина К.С., Пиунова У.Е., Кочеткова Т.В., Тоцаков С.В., Кубланов И.В.	110
28. Сравнительная геномика представителей рода <i>Thermofilum</i>: изучение особенностей метаболизма сахаров и биосинтетических путей.	



Иванов М.В., Кадников В.В., Анциферов Д.В., Глухова Л.Б., Равин Н.В., Карначук О.В.	111
29. Таксономически разнообразные спирохеты присутствуют в затопленной угольной шахте	
Ившина И.Б., Куюкина М.С., Криворучко А.В., Елькин А.А.	112
30. Биокатализаторы на основе актинобактерий рода <i>Rhodococcus</i> для деструкции нефтяных углеводородов при пониженных температурах	
Климова А.Ю.	113
31. Микробная трансформация парниковых газов в олиготрофной торфяной почве	
Козлова А.П., Черкасова М.Е., Мунтян В.С., Афонин А.М., Румянцева М.Л.	113
32. Бактериофаги <i>sinorhizobium meliloti</i>, выделенные в центре разнообразия люцерн	
Козяева В.В., Дзюба М.В., Узун М.М., Груздев Д.С.	114
33. Геномный анализ некультивируемого пресноводного магнитотактического кокка 'Ca. Magnetococcus inordinatus' UR-1	
Комаревцев С.К., Кабилов, М.Р., Шнейдер М.М., Попова Е.А., Мирошников К.К., Осмоловский А.А., Мирошников К.А.	115
34. Клонирование фибринолитической протеазы-активатора протеина с плазмы крови, продуцируемой микромицетом <i>Aspergillus ochraceus</i> BKM-F4104D	
Костина Н.В., Вечерский М.В., Кузнецова Т.А.	115
35. Микробная азотфиксация, ассоциированная с почвенными беспозвоночными	
Кублановская А.А., Чеканов К.А., Федоренко Т.А., Лобакова Е.С.	116
36. Микробиом зеленой каротиногенной микроводоросли <i>Haematococcus lacustris</i>	
Куликов Е., Голомидова А., Летаров А.	117
37. Профилирование статуса о-антигена бактерий как инструмент исследования стратегий инфекции бактериофагов	
Кулонов А., Мавжудова А., Нурмухамедова Х., Верушкина О., Мирзарахметова Д., Тонких А., Разаков Р.	117
38. Микробиологическое разнообразие Приалья	
Кураков А.В., Комиссаров Н.С., Хуснуллина А.И.	118
39. Экофизиологическая характеристика и выявление видов грибов – обитателей донных грунтов Белого моря	
Лаптева Е.М., Виноградова Ю.А., Ковалева В.А., Перминова Е.М., Чернов Т.И.	119
40. Профильное распределение и метаболическая активность микроорганизмов в почвах бугристых торфяников	
Лобанова А.А., Сафонов А.В., Коневник Ю.В., Бабич Т.Л.	120
41. Ультрамикрoформы бактерий и их роль в транспорте радионуклидов	
Лобастова Т.Г., Хомутов С.М., Довбня Д.В., Донова М.В.	121
42. 7α-гидроксильирование дегидроэпиандростерона грибным штаммом <i>Gibberella zeae</i> BKM F-2600	



Лукина А.П., Гавенко А.А., Анциферов Д.В., Глухова Л.Б., Франк Ю.А., Карначук О.В.	121
43. Микробные маты, ассоциированные с выходами глубинных термальных вод, как источник для культивирования новых организмов подземной биосферы	
Макаров И.О., Ключев Д.А., Дикарева Н.В., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А.	122
44. Активность оксидоредуктаз микромицетов при действии слабого магнитного поля и низкоинтенсивного лазерного излучения	
Минаев Н.В., Жигарьков В.С., Чутко Е. А., Юсупов В.И., Чепцов В.С., Качесов К.И., Горленко М.В., Елизаров И. М., Гаврилов С.Н., Кочеткова Т.В., Заюлина К.С., Кубланов И.В., Бонч-Осмоловская Е.А., Чичков Б.Н.	123
45. Лазерная инженерия микробных систем	
Моисеева Е.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н., Карасева Э.В.	123
46. Деструкция липидов микроорганизмами	
Муратова А.Ю., Голубев С.Н., Панченко Л.В., Галицкая П.Ю., Бикташева Л.Р., Селивановская С.Ю., Турковская О.В.	124
47. Сравнительный анализ таксономической структуры и ремедиационного потенциала ризосферных микробиомов растений, произрастающих на нефтезагрязненной почве	
Надтока М.И., Дзюба М.В., Козяева В.В., Груздев Д.С.	125
48. Изучение возможности горизонтального переноса магнетосомного геномного острова у магнитотактических бактерий	
Никитина Е.П., Буянтуева Л.Б., Абидуева Е.Ю.	126
49. Таксономическая и экофизиологическая характеристика представителей Actinobacteria, выделенных из почв степной зоны Селенгинского среднегорья	
Никиткин В.А., Никиткина Э.Г., Луцаева И.В., Колесниченко Л.Г.	127
50. Разнообразие микроорганизмов плоскостристых торфяников Западной Сибири (на примере ключевого участка Ханымей)	
Николаев Ю.А., Грачев В.А., Каллистова А.Ю., Марданов А.В., Равин Н.В., Берестовская Ю.Ю., Канапацкий Т.А., Пименов Н.В.	127
51. Сукцессия микробного сообщества активного ила, осуществляющего процесс анаммокс в лабораторном биореакторе	
Новокупцев Н.В., Ревин В.В.	128
52. Создание новых биокомпозиционных материалов на основе лигноцеллюлозного сырья и биосвязующего, содержащего полисахарид леван	
Павлова А.С., Ожегов Г.Д., Арапиди Г.П., Яруллина Д.Р., Каюмов А.Р.	129
53. Новый штамм Lactobacillus fermentum HF-D1 – продуцент антимикробных пептидов	
Павлова О.Н., Новикова А.С., Черницына С.М., Изосимова О.Н., Горшков А.Г.	130
54. Первые результаты изучения процессов анаэробного окисления нефти в донных осадках озера Байкал	
Панюшкина А.Е., Бабенко В.В.	131
55. Аспекты металлорезистентности у сульфобацилл	



Пелевина А.В., Берестовская Ю.Ю., Борзенков И.А., Васильева Л.В.	131
56. Психроактивные представители нефтеокисляющих бактерий рода <i>Rhodococcus</i>	
Петрова Е.В., Кукарских Г.П., Кренделева Т.Е., Антал Т.К.	132
57. Адаптационная роль фотообразования водорода в клетках <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> в условиях минерального голодания.	
Пилигримова Э.Г., Казанцева О.А., Никулин Н.А., Шадрин А.М.	133
58. Новый бактериофаг бактерий группы <i>Bacillus cereus</i>	
Поздняков Л.А., Кузюбердина Д.А., Ямалиева Д.И., Дуброва М.С.	134
59. Прокариотные сообщества торфоземов долины реки Яхрома	
Полянская Л.М.	135
60. Корневые волоски ячменя обыкновенного (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	
Пошибаева А.Р., Гируц М.В., Гаянова А.А., Перевалова А.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Гордадзе Г.Н.	135
61. Прокариоты как источник нефтяных углеводородов кальдеры вулкана Узон	
Провоторова Е.А., Черных Н.А., Лебединский А.В., Соколова Т.Г.	136
62. Первый автотрофный карбоксидотрофный штамм рода <i>Thermus</i>	
Пятибратов М.Г., Сюткин А.С., Квакс Т.Е.Ф., Мельник Т.Н., Галева А.В., Федоров О.В.	137
63. Роль множественных археллиновых генов в формировании структуры жгутиков галофильных архей	
Ратникова Н.М., Слободкин А.И., Меркель А.Ю., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкина Г.Б.	138
64. '<i>Sulfurimonas crateris</i>' sp. nov. новый вид хемолитотрофных факультативно-анаэробных сероокисляющих бактерий из грязевого вулкана Тамани	
Реутова И.О., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А.	139
65. Действие фунгицидов на некоторые физиолого-биохимические характеристики гриба <i>Pyricularia oryzae</i>	
Сабирова А.Э., Каюмов А.Р., Лисовская С.А., Павельев Р.С., Гарипов М.Р., Штырлин Н.В., Штырлин Ю.Г.	139
66. Разработка производного пиридоксина и тербинафина для терапии полимикробных биопленок <i>Staphylococcus aureus</i> и <i>Candida albicans</i>	
Саданов А.К., Балгимбаева А.С., Треножникова Л.П., Березин В.Э., Турлыбаева З.Ж., Кулмагамбетов И.Р., Итемирова А.О., Абилкасымова Г.Е.	140
67. Клинико-микологическая эффективность лечения новым противогрибковым препаратом «РОЗЕОФУНГИН-АС» кожных грибковых инфекций	
Самков А.А., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Лазукин А.А., Круглова М.Н., Зеленская А.А. .	141
68. Изменение кatabолической активности микрофлоры анодной зоны микробного топливного элемента	
Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.	142
69. Эффекты экстрактов лекарственных растений на биопленки <i>Escherichia coli</i> в присутствии антибиотика цефотаксима	



Самсонова Е.А., Сигида Е.Н., Коннова С.А., Федоненко Ю.П.	142
70. Влияние структурно различных липополисахаридов бактерий рода <i>Azospirillum</i> на активность пероксидазы в растениях	
Сафонов А.В., Попова Н.М., Лобанова А.А., Селедчик П.А., Ершов Н.А., Богуславский А.Е. ...	143
71. Перспектива биоремедиации пластовых вод с урановым загрязнением в присутствии высоких концентраций нитрат-ионов вблизи шламохранилища АО «ЭХЗ»	
Сафонов А.В., Бабич Т.Л., Болдырев К.В., Соколова Д.Ш., Захарова Е.В., Назина Т.Н.	144
72. Опыт in situ биоремедиации подземных вод с радионуклидным загрязнением	
Селиванова Е.А., Хлопко Ю.А., Плотников А.О.	144
73. Разнообразие прокариот в планктонных сообществах Соль-Илецких озер	
Селицкая О.В., Бегматов Ш.А.	145
74. Выделения и идентификация новых галотолерантных азотфиксирующих бактерий аридных засоленных почв	
Семенов М.В., Никитин Д.А.	146
75. Агрогенная эвтрофикация почвы как причина перестройки микробного сообщества ризосферы сельскохозяйственных культур	
Слободкина Г.Б., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И.	147
76. Новые термофильные представители класса <i>Clostridia</i> из наземных гидротерм Камчатки и Кунашира	
Смирнова Г.В., Тюленев А.В., Безматерных К.В., Музыка Н.Г., Ушаков В.Ю., Октябрьский О.Н.	148
77. Гомеостаз цистеина при ингибировании синтеза белка в клетках <i>Escherichia coli</i>	
Соколянская Л.О., Калинина А.Е., Глухова Л.Б., Иванов М.В., Карначук О.В.	149
78. Выделение термофильных микромицетов из горящих отвалов добычи угля на месторождении Бунгурский Северный	
Сорокина Е.В., Водолазов И.Р., Олескин А.В.	149
79. Действие нейтроактивных веществ на биолюминесценцию <i>Escherichia coli</i> K12 TGI	
Спирина Е.В., Юнусова А.К., Петровская Л.Е., Суханов А.Ю., Ривкина Е.М.	150
80. Биотехнологический потенциал микроорганизмов вечной мерзлоты озерного и морского генезиса	
Терехова В.А., Федосеева Е.В., Иванова А.Е., Пукальчик М.А., Верховцева Н.В., Якименко О.С.	151
81. Микобиота и оценка риска химического загрязнения почв	
Толева Ш.Н., Шарманов Т.Ш., Синявский Ю.А.	152
82. Перспектива использования кобыльего молока при создании кисломолочных продуктов с добавлением компонентов растительного происхождения	
Тутукина М.Н., Казнадзей А.Д., Шелякин П.В., Белоусова Е.А., Гельфанд М.С.	153
83. Функции YIN-касеты генов – есть ли у <i>Escherichia coli</i> альтернативный путь метаболизма лактозы?	



Ушакова Н.А., Мельников В.Г., Мачнева Г.А., Бахраков А.И.	154
84. Дрожжи <i>Candida pseudorugosa</i> – кишечный микросимбионт личинок черной львинки <i>Hermetia illucens</i> и его влияние на процесс биоконверсии органических субстратов	
Феокистова Н.А., Мاستиленко А.В., Сульдина Е.В., Васильев Д.А.	155
85. Система полимеразно-цепной реакции для идентификации бактериофагов <i>Proteus spp.</i>, <i>Yersinia enterocolitica</i>, <i>Enterobacter spp.</i>	
Фокина Н.В., Корнейкова М.В., Редькина В.В.	156
86. Численность и разнообразие микроорганизмов природных сред на территории поселка Беринговский Чукотского автономного округа России	
Фролов Е.Н., Бонч-Осмоловская Е.А., Пименов Н.В., Черных Н.А., Меркель А.Ю.	157
87. Сульфатредукция в кислых термальных источниках полуострова Камчатка	
Фролова А.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И.	157
88. '<i>Anaerobaculum tamaniensis</i> gen. nov., sp. nov. новый анаэробный микроорганизм из грязевого вулкана Таманского полуострова	
Халилова Э.А., Котенко С.Ц., Исламмагомедова Э.А., Аливердиева Д.А.	158
89. Некоторые фенотипические свойства галофильных бактерий, выделенных из биогеоценозов прикаспийской низменности (Дагестан)	
Хасенова А.Х., Турлыбаева З.Ж., Султанова А.	159
90. Влияние химического мутагенеза на повышение антагонистических свойств актиномицетов	
Хомякова М.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И.	160
91. Новые анаэробные микроорганизмы из грязевых вулканов таманского полуострова	
Черных Н.А., Фролов Е.Н., Меркель А.Ю.	160
92. Диссимиляционная сульфатредукция: анализ фенотипических и геномных признаков	
Шемякина А.О., Гречишников Е.Г., Новиков А.Д., Калинина Т.И., Лавров К. В., Яненко А.С. ...	161
93. Направленная регуляция экспрессионной системы в бактериях <i>RRhodococcus rhodochrous</i>	
Яковлева Г.Ю., Колпаков А.И., Ильинская О.Н.	162
94. Биокоррозия современных строительных конструкций	
Мариана Фил, Оскар Веласко-Родригес, Катарина Козалкова, Алберто Сола-Ланда, Карлос Баррейро	163
95. Гниющая древесина как источник микроорганизмов, образующих новые промышленно-важные соединения	
Mariana Fil, Óscar Velasco-Rodríguez, Katarina Kosalkova, Alberto Sola-Landa, Carlos Barreiro ...	164
96. Wood decayed as a huge source of new industrially-relevant compounds	
Эсмеральда Цебриан-Састре, Карлос Баррейро, Антонио Родригес-Гарсиа, Алберто Сола-Ланда	164
97. Стероиды индуцируют изменения в центральном метаболизме <i>Mycobacterium neoaurum</i>	



Esmeralda Cebrián-Sastre, Carlos Barreiro, Antonio Rodríguez-García and Alberto Sola-Landa 165
[98. Steroids induce changes in central metabolism of Mycolicibacterium \(Mycobacterium\) neoaurum](#)

Цыренова Д.Д., Бархутова Д.Д. 166
[99. Цианобактерии содово-соленых озер Забайкалья: разнообразие, экофизиология, таксономия](#)

Elizaveta Vinogradova, Alexei Solovchenko, Inna Khozin-Goldberg, Irina Selyakh, Larisa Semenova, Tatiana Ismagulova, Alexandr Lukyanov, Ilgar Mamedov, Ivan Zvyagin, Olga Gorelova, Olga Karpova, Svetlana Vasilieva, Peter Mojzes, Cor Dijkema, Margarita Vecherskaya, Ladislav Nedbal 168
[100. Phosphorus starvation and luxury uptake in microalgae revisited](#)

Франк Ю.А., Лукина А.П., Абрамова А.В., Глухова Л.Б., Карначук О.В. 168
[101. Выделение новой сульфидогенной бактерии из подземных горизонтов Западно-Сибирского артезианского бассейна](#)

Irina Tsvetkova, Sergey Belanov, Vladimir Gostev, Ekaterina Nikitina, Olga Kalinogorskaya, Marina Volkova, Irina Lazareva, Vladimir Ageevets, Sergey Sidorenko 169
[102. Antimicrobial Resistance and Clonality of Streptococcus pneumoniae Isolates in Russia](#)

Алехова Т.А., Загустина Н.А., Новожилова Т.Ю., Жбанов Ю.К., Жуков В.Г.
[103. Подбор консорциумов технофильных микроорганизмов в биофильтрах для удаления органических соединений из конденсата атмосферной влаги на пилотируемых космических комплексах](#) 170



ПЛЕНАРНЫЕ ДОКЛАДЫ

РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ ЭКОЛОГИИ И РАЗНООБРАЗИИ ХЛОРОФОТОТРОФОВ ФИЛУМА *CHLOROFLEXI*

Горленко В.М.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва,
vgorlenko@mail.ru

За последние годы получены новые данные о биоразнообразии нитчатых анаэробных фототрофных бактерий (АНФБ) филума *Chloroflexi*. Это предоставило возможность обсудить с новых позиций эволюционные пути этой древней группы хлорофототрофов.

Основной целью сообщения является анализ литературных и собственных данных о филогенетическом и функциональном разнообразии АНФБ, полученных методами молекулярной биологии и традиционными методами микробиологии.

За последние пять лет выявлены новые эконихи АНФБ как в термальных источниках, так и в холодных пресных, соленоводных и содовых местообитаниях. Описаны новые таксоны и выполнен их геномный анализ, на основании которого сделаны выводы о путях фотоавтотрофной фиксации углекислоты, способности к азотфиксации и к окислению восстановленных соединений серы. В ранге «*Candidatus*»: описаны новые термофилы рода *Roseilinea*, *Chloranaerofilum*, *Chlorolinea* и мезофилы: *Chloroploca*, *Viridilinea*, новый вид *Oscillochloris fontis* sp. nov. и некоторые другие.

Все известные фототрофные *Chloroflexi* имеют фотосистему второго типа и пигмент белковый комплекс, подобный пурпурным бактериям. Обнаружены облигатно хемогетеротрофные члены филума *Chloroflexi*, содержащие кластер генов, кодирующий способность к анаэробному фотосинтезу. Этот факт дает основание полагать, что у данной группы нитчатых бактерий происходит латеральный перенос генов фотосинтеза. Установлено, что термофильные виды *Chloroflexi* имеют ферменты гидроксипропионатного пути фиксации углекислоты. Среди мезофильных АНФБ этот путь реализуется у двух новых видов рода *Viridilinea*, и у трех видов рода *Chloroploca*. В то время как ферменты цикла Кальвина найдены только у мезофильных видов рода *Oscillochloris*, рода *Chlorothrix* и у бактерий еще не описанного нового рода. Подтверждается отсутствие азотфиксации у термофильных видов, тогда как у большинства мезофильных АНФБ *nifH* ген обнаружен. Исключение составляет *Chloroploca asiatica*. Все полученные в культурах мезофильные хлорофототрофы строгие анаэробы. Новые мезофильные АНФБ строгие анаэробы и нуждаются в сульфиде. У многих бактерий обнаружен фермент сульфидхинонредуктаза. Однако серный метаболизм у мезофилов слабо изучен, поскольку большинства описанных видов не выделены в виде чистых культур.

Заключая отметим, что исследование геномных данных более 10 новых таксонов *Chloroflexi* выявило основные тенденции эволюции древней ветви хлорофототрофов.

Исследование выполнено в рамках проекта РФФИ 19-04-00423.

АВТОХТОННЫЕ БАКТЕРИОФАГИ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Дрюккер В.В., Горшкова А.С.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, drucker@lin.irk.ru

В последнее время в морях и океанах установлена высокая численность водных вирусов - более 100 млн. частиц/мл, которая значительно превышает количество всех других водных орга-



низмов. Выяснено, что автохтонные бактериофаги (фаги) – вирусы бактерий играют в морских экосистемах ключевую роль в регулировании разнообразия, численности и структуры бактериальных сообществ, принимая активное участие в биохимических циклах. Цель работы – выявить морфологию, численность, размерный спектр, вертикальное распределение и сезонную динамику автохтонных бактериофагов в самом древнем и глубоком озере мира Байкале.

Отбор проб воды проводили в зимний, весенний, летний и осенний периоды года в пелагиали озера с поверхности и глубин 25, 250, 500, 1000 и 1200 м. Методом трансмиссионной электронной микроскопии (ультрацентрифуги *Beckman-L8-55*, *Sorvall Discovery-96 SE*, скорость 100 000 об/мин в течение 1.5-2 часов) на ТЭМ LEO-906 E (Zeiss, Германия) в 100 полях зрения проводили подсчет численности фагов в двух повторностях. Общую численность бактерий определяли на эпифлуоресцентном микроскопе Olympus - BX51 (Япония). Идентификацию фагов проводили по морфологическим признакам.

Впервые в водной толще оз. Байкал во все сезоны года выявлено и изучено 9 семейств бактериофагов: *Siphoviridae*, *Myoviridae*, *Podoviridae*, *Microviridae*, *Leviviridae*, *Inoviridae*, *Tectiviridae*, *Fuselloviridae*, *Rudiviridae*. Обнаружено четыре морфотипа фагов неизвестного систематического положения (эндемичные?). Таким образом, большое биоразнообразие, характерное для флоры и фауны озера Байкал, относится и к фагам. Доминирующими в водной толще являются фаги семейства *Siphoviridae* - 40-59%. Размерный спектр байкальских фагов представлен пятью классами величин: от ≤ 30 нм до ≥ 100 нм. Преобладающими являются фаги размером 30-80 нм. Численность свободных фаговых частиц в воде оз. Байкал в различные сезоны изменялась от 0.01 до 0.58 млн. частиц/мл. Наибольшая численность фагов отмечается в весенний и летне-осенний периоды в поверхностном слое воды, что коррелирует с численностью бактерий. Минимальное количество фагов наблюдается в зимний период на глубине 1000 м. Определен полный геном гигантского байкальского фага PaBG семейства *Myoviridae*.

Проведенные исследования автохтонных бактериофагов в водной толще оз. Байкал позволили впервые установить значительное таксономическое разнообразие, особенности временного и пространственного распределения их до максимальных глубин во все сезоны года, что указывает на участие вириопланктона в функционировании самой древней, глубоководной пресноводной экосистемы мира.

СКРИНИНГ БИОРАЗНООБРАЗИЯ

Габибов А.Г., Смирнов И.В., Белогуров А.А., Степанов А.В., Мокрушина Ю.А., Терехов С.С.

Институт биоорганической химии им. Шемякина и Овчинникова РАН, Москва

Комбинаторная химия и биология стали отличительной чертой науки о жизни в XXI веке. Для скрининга больших репертуаров белков и клеточных клонов необходимо разработать чувствительные системы обнаружения новых клонов и создать высокопроизводительные скрининг-платформы. Мы разработали микрофлюидные подходы для скрининга микробиоты, биокаталитических клонов, разнообразия антител и специфических химерных антигенных рецепторов (CAR therapy). Этот подход рассмотрен для эффективного и безопасного лечения фолликулярной лимфомы. Поскольку лимфома обладает клональной злокачественностью, каждая опухоль имеет на поверхности клетки различные специфические антитела. Мы разработали принципы комбинаторного аутокринного скрининга. Из пептидной библиотеки находятся антигенные пептиды к В-клеточным рецепторам на поверхности опухолевых клеток. Выбранные лиганды используются в формате CAR-T (химерных Т рецепторов) для перепрограммирования цитолитических лимфоцитов человека (CTL). Методы сверхвысокопроизводительного скрининга могут помочь идентифицировать уникальную функциональность клеток из миллионов вариантов. В *in vivo* варианте мы разработали метод, основанный на одноклеточной инкапсуляции в каплях монодисперсной микрожидкостной двойной эмульсии, вода-масло-вода (MDE). Биосовместимый MDE метод позволяет выращивать капли, содержащие различные клоны.



Комбинация капельного оборудования с проточной цитофлуориметрией FACS с последующим полногеномным секвенированием и жидкостной хроматографией-масс-спектрометрическим анализом секретов инкапсулированных организмов дала подробные описания генотипа / фенотипа ряда микроорганизмов. Эта платформа была протестирована с биофармацевтическими препаратами, экспрессированными на поверхности дрожжевых клеток. Было достигнуто обогащение, близкое к теоретическому пределу. Универсальность подхода была идентифицирована как обладающая ингибирующей активностью, включая медленно растущие виды микроорганизмов, которые подавляют рост общего патогена, *Staphylococcus aureus*, что открывает широкие перспективы скрининга природных и искусственных библиотек антибиотиков различной природы и ингибиторов ферментов резистентности. Выбор *in vitro* антител из больших репертуаров с использованием комбинаторных библиотек является мощным инструментом, обладающим большим потенциалом для создания акцепторов для токсинов. Мы предложили имитировать стадии созревания антител с помощью виртуального скрининга виртуальных библиотек. Мы достигли этой цели с помощью квантовой механики / молекулярной механики (QM / MM).
При поддержке Гранта РНФ 17-74-30019 и РФФИ 18-29-08054.

РАЗНООБРАЗИЕ ТЕРМОФИЛЬНЫХ ЛИТОАВТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Слободкин А.И.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
aslobodkin@mail.ru

Литоавтотрофные прокариоты играют значительную роль в трансформации соединений углерода, азота, серы и железа в современной биосфере, принимая участие во всех этапах биогеохимических циклов этих важнейших биогенных элементов.

Несмотря на бурное развитие молекулярных методов, исследование чистых культур продолжает оставаться основным источником достоверных данных о физиологии и метаболизме новых микроорганизмов.

Результатом наших исследований является выделение и описание ряда новых таксонов термофильных хемолитоавтотрофных микроорганизмов, принадлежащих к различным филогенетическим группам, в том числе к семи новым родам. Выделенные литоавтотрофы населяют наземные горячие источники и мелководные и глубоководные морские гидротермы, где могут служить первичными продуцентами органического вещества. Анализ геномов полученных организмов указывает на то, что ассимиляция неорганического углерода происходит различными биохимическими путями. Изучение физиологии новых изолятов привело к описанию ранее неизвестных для термофилов микробных процессов, таких как диссимиляционное восстановление Fe(III), диспропорционирование соединений серы, аммонификация нитрата с элементной серой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-74-30025).

ГЕНЕТИКА И СИСТЕМАТИКА АСКОМИЦЕТОВЫХ ДРОЖЖЕЙ

Наумова Е.С.

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, lena_naumova@yahoo.com

Несмотря на значительные успехи молекулярной филогенетической классификации, многие современные роды дрожжей остаются гетерогенными и включают генетически неродственные таксоны.



Обобщены многолетние исследования нашей лаборатории по изучению генетических основ природного разнообразия, эволюции и таксономии аскомицетовых дрожжей на материале штаммов различного происхождения.

Генетически гомогенные роды представляет собой группу скрещивающихся видов. Благодаря постзиготической изоляции родительских видов межвидовые гибриды стерильны: нежизнеспособность гибридных аскоспор.

Генетический род не только теоретическая, но и операционная концепция. На многочисленных примерах показано, что генетические подходы позволяют дифференцировать виды, разновидности и роды дрожжей.

РАЗНООБРАЗИЕ И СИСТЕМАТИКА ПРОКАРИОТ: МИРОВОЙ ОПЫТ И ЛАБОРАТОРНАЯ ПРАКТИКА

Щеголев С.Ю.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук,
Саратов, shegolev_s@ibppm.ru

Сведения о разнообразии прокариот в конкретных средах их обитания чрезвычайно важны для понимания эволюционных процессов и механизмов сложных взаимодействий с участием данных микроорганизмов, оптимального выбора объектов для их изучения и практического использования. Однако видовая идентификация прокариот отличается сложностью в связи с известными ограничениями традиционных молекулярно-филогенетических методов и трудно учитываемыми эффектами горизонтального переноса генов (ГПГ). Целью работы были оценки актуальности ревизии сложившейся классификации и номенклатуры прокариот, выявляемой в публикациях последних лет по результатам полногеномного секвенирования ДНК штаммов, и ее масштабов на примере бактерий рода *Azospirillum*, составляющих основу оригинальной части коллекции ИБФРМ РАН.

Использованы тесты 16S рРНК, средней нуклеотидной (ANI) и средней аминокислотной (AAI) идентичности; компьютерная гибридизация ДНК-ДНК (GGDC); технологии Атласа микробных геномов (MiGA) и Базы данных геномной таксономии (GTDB). Учтено, что для устранения противоречий в полифилетических группах и нормализации таксонов авторами наиболее развитой в количественном отношении технологии GTDB констатирована необходимость внесения существенных классификационных изменений, затрагивающих около 60% проанализированных ими объектов.

Установлено, что из 46 геномов в базе данных NCBI (осень 2018 г.) для объектов, причисляемых их авторами к роду *Azospirillum*, 13 не соответствуют данному роду по количественным критериям в тестах 16S рРНК, ANI и AAI. В том числе метагеномные объекты *Azospirillum* sp. CAG, sp. 47_25 и sp. 51_20, оказавшиеся по данным GTDB в составе порядка RF32, отдельного от порядка *Rhodospirillales* в классе альфа-протеобактерий.

Таким образом, современные методики, основанные на результатах полногеномного секвенирования ДНК (ANI, AAI, GGDC, MiGA, GTDB, MLSA) с использованием филогенетических маркеров из базовой (наследуемой) части пангенома, не отражают в полной мере эволюционную историю прокариот. Это зачастую приводит к противоречиям с результатами на основе полифазного подхода, учитывающего разнообразные фенотипические признаки, зависящие от ГПГ.



Пименов Н.В.

Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
npimenov@mail.ru

Черное море – уникальный глубоководный мермиктический водоем, аэробные воды которого распространяются от поверхности до глубины 90-100 м в центральной части и до глубин 130-160 м в пределах континентального склона. В анаэробных водах наблюдается одновременное присутствие значительных концентраций сероводорода и метана, имеющих на основании изотопно-геохимических данных микробное происхождение. Гидрологические, геохимические и геологические особенности Черного моря способствуют развитию физиологически разнородных микробных сообществ, обеспечивающих протекание в водной толще и донных осадках активных процессов круговорота органического вещества и основных биогенных элементов. Микробиологические исследования последних десятилетий позволили выявить основные геохимически активные зоны в Черном море, изучение которых привело к значительному расширению представлений о функциональном и таксономическом разнообразии прокариотических форм жизни в этом водоеме. С точки зрения сообществ прокариот представляют несомненный интерес зона контакта аэробных кислородсодержащих и анаэробных бескислородных вод; подповерхностные аэробные воды, где наблюдается повышение концентрации метана («метановый парадокс»); районы выноса крупных рек Дуная, Днепра и Днестра, где в 70-80-ые годы прошлого столетия наблюдались заморные явления; глубоководные грязевые вулканы и метановые сипы континентального склона с разгрузкой в анаэробные придонные слои водной толщи, а также мелководные метановые сипы, располагающиеся как вдоль линий геодинамических нарушений, так и вне их, и фиксируемые по постоянному или периодическому выходу из донных осадков пузырьков газа. Микробиологические и изотопно-геохимические исследования «горячих точек» в Черном море были инициированы академиком М.В. Ивановым в конце 70-ых годов прошлого столетия и продолжаются до настоящего времени его учениками и последователями. Наиболее значимые результаты этих работ связаны с количественной оценкой процессов хемосинтеза на границе окисленных и восстановленных вод в глубоководной водной толще, измерением скоростей сульфатредукции, образования и окисления метана в зонах выноса рек северо-западного шельфа Черного моря, выявлением крупномасштабного процесса анаэробного окисления метана при участии консорциума архей, относящихся к кластеру ANME-1 и ANME-2, и сульфатредуцирующих бактерий, что сопровождается образованием так называемых «methane-derived» карбонатов, построением количественной модели круговорота метана в Черном море. Недавние микробиологические и биогеохимические исследования площадок струйных газовыделений в мелководной зоне Крымского полуострова выявили несколько типов струйных газовыделений, существенно отличающихся как по геохимическим, так и по микробиологическим характеристикам, что открывает перспективы поиска и выделения ранее некультивируемых бактерий и архей в относительно доступных местах не требующих специальных морских судов и пробоотборной техники.

Работа частично финансировалась из средств РФФИ 17-04-00023.

НОВЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ЦИКЛА СЕРЫ ИЗ ПОДЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ

Карначук О.В.¹, Равин Н.В.²

¹Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет, Томск, olga.karnachuk@green.tsu.ru

²Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Фундаментальные представления о реакциях цикла серы, катализируемых микроорганизмами, основаны на изучении биогеохимии наземных биотопов. Наши знания о катализируемых микробами преобразованиях серы в подземных горизонтах до сих пор находятся в зачаточном состоянии. Метагеномные исследования и молекулярный анализ сообществ по последовательностям генов 16S рРНК показывают присутствие, как окислителей серы, так диссимиляционных восстановителей сульфатов и однозначно свидетельствуют о ведущей роли некультивируемых групп. Культивирование является существенным этапом для разъяснения возможных биогеохимических реакций, осуществляемых микроорганизмами. Метагеномный анализ, предшествующий культивированию, позволяет усовершенствовать походы и перейти от «случайного» к «направленному» выделению целевых групп микроорганизмов.

Наши исследования направлены на культивирование организмов цикла серы из глубинных водоносных горизонтов Западно-Сибирской артезианской области. Особенностью гигантского бассейна является повсеместно низкое содержание сульфатов. Однако метагеномный анализ показал присутствие значительного количества бактерий восстанавливающих сульфаты, чья биогеохимическая роль остается непонятной. Выделение некультивируемых ранее бактерий в нашей лаборатории было основано на первоначальном определении целевых групп путем метагеномного анализа. Для некоторых организмов также были получены композитные геномы, позволяющие определить метаболические пути и возможные доноры электронов при культивировании.

Использованный подход позволил получить культуры большинства целевых организмов, обнаруженных по последовательностям генов 16S рРНК. Значительную долю составляли *Firmicutes*, включая нескольких представителей рода *Desulforudis*, новых представителей семейства *Peptococcaceae*, а также сопутствующих сульфидогенам новых бактерий филума *Spirrochaetes*. Последние могут участвовать в окислении H₂S, образуемого диссимиляционными восстановителями. Эксперименты по выращиванию сульфидогенов подземной биосферы с нерастворимыми сульфатами стронция и бария подтвердило гипотезу о возможной мобилизации серы из нерастворимых целестина и барита вмещающих пород.

Исследования поддержаны грантом РФ 18-14-00130.

БИОГЕОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В ВЕЧНОМЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

Ривкина Е.М.

Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения
Российской академии наук
Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Московская область, г. Пущино,
elizaveta.rivkina@gmail.com

Введение. Биогеохимические методы, к которым относятся использование радиоактивно меченных субстратов для оценки скорости микробиологических процессов в различных экосистемах, а также значения вариаций стабильных изотопов углерода и серы для определения скорости процессов, их масштабов и условий, в которых они протекали, были наряду с микробиологическими методами базовыми для лаборатории биогеохимии микроорганизмов ИБФМ, возглавляемой академиком М.В. Ивановым.



Исследуя многолетнемерзлые отложения, мы старались следовать традициям этой лаборатории, используя комплексные подходы для понимания процессов, происходящих в отрицательно-температурных экосистемах.

Объекты и методы. Территория, высокоширотной Арктики, где формировались многолетнемерзлые отложения с высоким содержанием лабильного органического вещества, характеризовалась, за исключением отдельных периодов, преимущественно гумидными условиями на протяжении всего плейстоцена и голоцена. Большое количество озер, донные осадки которых были богаты органическим веществом, способствовало протеканию микроаэрофильных и анаэробных биогеохимических реакций: денитрификации, железоредукции, сульфатредукции, метанобразования и др. Продукты этих реакций мы находим в многолетнемерзлых отложениях, где запечатлены результаты биогеохимических процессов, происходивших до их промерзания. Вместе с тем, присутствие в этих отложениях метастабильных и эфемерных соединений, таких как кислоторастворимые сульфидные минералы типа грейгит (Fe_3S_4) и макинавит (Fe_9S_8), а также закиси азота (NO_2), позволило предположить, что существует возможность биогеохимических реакций в осадочных отложениях уже после того как они промерзли, то есть при отрицательных температурах.

Результаты и обсуждение. С использованием радиоактивно меченных субстратов в лабораторных условиях мы показали, что при отрицательных температурах может происходить формирование микробных липидов и образование метана. Исключительно легкий изотопный состав углерода метана, в некоторых образцах -89/-99‰, подтверждает высокий уровень фракционирования изотопов углерода.

Выводы. Мы полагаем, что процессы метанобразования в мерзлоте происходили медленно, что способствовало высоким значениям коэффициента фракционирования. Очевидно, что большая часть продуктов биогеохимической деятельности микроорганизмов была результатом процессов, происходивших в талых отложениях до промерзания, однако сам факт возможности таких реакций при отрицательных температурах является важным для понимания механизмов сохранения микроорганизмами жизнеспособности в многолетнемерзлых породах в течение геологически значимого времени, от нескольких тысяч до нескольких миллионов лет.

Работа выполнена в рамках государственного задания АААА-А18-118013190181-6 и Программы президиума РАН АРКТИКА АААА-А18-118013190182-3

ЧТО МЫ ЗНАЕМ О МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Земская Т.И.

ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск,
tzema@lin.irk.ru

Озеро Байкал является самым древним и глубоким озером в мире и среди озер характеризуется наибольшим разнообразием видов животных и растений (Timoshkin, 1997). В связи с трудностью культивирования и идентификации наименее изученной компонентой этой глубоководной экосистемы были микробные сообщества. Развитие методов молекулярной микробиологии позволило значительно расширить наши знания о микроорганизмах озера Байкал.

Для исследования разнообразия, таксономического состава микробных сообществ и их метаболизма в разных экотопах озера Байкал, использовались методы культивирования, световой и электронной микроскопии, анализ структур генов 16S рРНК, функциональных генов и геномов отдельных видов и сообществ микроорганизмов с использованием высокопроизводительных платформ.

На основе анализа библиотек генов 16S рРНК исследована структура сообществ в донных отложениях и водной толще озера Байкал, определены доминирующие флотипы бактерий и архей, проведен сравнительный анализ с данными, полученными в других пресноводных и морских экосистемах. Ближайшие байкальским последовательностям гомологи включены



в различные процессы деструкции органических субстратов, а также жидких и газообразных углеводов. В местах интенсивной разгрузки минерализованных флюидов и повышенных тепловых потоков выявлены последовательности архей ANME-2d клады (*Euryarchaeota*), осуществляющие нитрат-зависимое анаэробное окисление метана (АОМ). В зоне поддонных газогидратных полей в Среднем Байкале отмечено формирование микробных матов, функционирование которых основано на метанотрофии. В лабораторных экспериментах показано влияние концентраций метана в среде на развитие аэробных метанотрофных бактерий, установлено формирование консорциумов архей и бактерий филума NC10 при анаэробном окислении метана.

Исследование полных геномов (MAG) в фотической и глубоководной зонах пелагиали Южного Байкала свидетельствует о более разнообразном составе микроорганизмов в глубинных слоях водной толщи. Анализ полных геномов (MAG) свидетельствует о наличии новых линий бактерий и архей, которые не встречаются в других водоемах и имеют лишь отдаленное родство с геномами других пресноводных микроорганизмов. В геномах бактерий из фотической зоны обнаружены гены родопсина, что может свидетельствовать о их фотогетеротрофии.

Исследования выполнены в рамках государственного задания (0345–2016–0007) и гранта офи-м № 17-29-05040.

Timoshkin O.A. Biodiversity of Baikal fauna: state-of-the-art (Preliminary analysis) // New Scope on Boreal Ecosystems in East Siberia: Proc. of the Intern. Workshop, Kyoto, Jap; 23-25 nov.1994 (DIWPA Ser.) ed. Wada E. et al. – Novosibirsk: Russ. Akad. of Sci. Siberian Branch. – 1997. – Т. 2. – С.35-76.

МИКРОБНЫЕ ПРОЦЕССЫ И ИХ ГЕОХИМИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ В МОРСКИХ И ПРЕСНОВОДНЫХ ВОДОЕМАХ АРКТИКИ

Саввичев А.С.¹, Леин А.Ю.²

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, savvichev@mail.ru

²Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН, Москва

Изотопный состав углерода взвешенного органического вещества (ВОВ) и органического вещества (ОВ) донных осадков морских водоемов формируется за счет ОВ, поступающего с континентов в составе речного стока и аэрозолей (аллохтонное ОВ) и ОВ, синтезируемого морскими организмами в самом море (автохтонное ОВ). Изотопный состав аллохтонного ОВ, выраженный величиной $\delta^{13}C$, варьирует в широком диапазоне значений $\delta^{13}C$ от –14 до –30 и зависит от биохимических особенностей фотосинтеза наземных растений (C3 или C4 тип фотосинтеза), доли аллохтонного ОВ и ряда других причин. В настоящее время данных об изотопном составе углерода ОВ взвеси и донных отложений морей Арктики крайне мало. Целью работы является анализ эмпирического материала, связанного с оценкой влияния фитопланктона и микроорганизмов на формирование изотопного состава углерода ВОВ и ОВ донных осадков шельфовых морей российской Арктики. Инициатором и руководителем всех изотопных исследований был академик РАН М.В. Иванов.

Образцы донных осадков и взвеси собирали в экспедициях, организованных Институтом океанологии им. П.П. Ширшова РАН на Белое, Баренцево и Карское моря в конце лета – начале осени, а также в экспедиции в Чукотское море по российско-американскому проекту RUSALCA. Все исследованные моря, за исключением Белого, располагаются на материковой отмели Северного Ледовитого океана, с глубинами менее 100 м, севернее Полярного круга, что обуславливает продолжительный ледовый период и низкие температуры воды и воздуха даже в летнее время. Речной сток, поставляющий в море биогенные элементы и терригенную взвесь, варьирует более чем в 10 раз – от 3.1 % объема речного стока от общего объема морской воды в Белом море до 0.18% в Чукотском море. Анализ изотопного состава углерода органического вещества (а также углерода карбонатов) проводили в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского



РАН. Были исследованы также скорости микробных процессов метанобразования, метаноокисления, темновой фиксации CO_2 и сульфатредукции, с использованием радиоактивно меченых соединений углерода и серы.

Показано, что ИСУ ВОВ и ИСУ ОВ для каждого из морей, в первую очередь, зависит от соотношения количества ОВ, продуцируемого в водоеме, и количества ОВ терригенного происхождения. В Белом море, где величина первичной продукции (ПП) превышает величину ежегодного поступления терригенного ОВ в 5.3 раза, величина $\delta^{13}\text{C}$ углерода ВОВ равна -29.1‰ , а в Чукотском море, где величина ПП превышает поставку терригенного ОВ более чем в 300 раз, величина $\delta^{13}\text{C}$ углерода ВОВ равна -21.8‰ . Как показано на примерах Баренцева и Чукотского морей, заметное влияние на формирование ИСУ ВОВ оказывает взвесь, приносимая течениями из соседних морей. Впервые доказано, что ИСУ ОВ донных осадков во всех изученных морях отличается от ИСУ ВОВ, являющегося основным компонентом органического углерода осадков во всех шельфовых морях. Это происходит за счет продукции дополнительного количества ОВ микробной биомассы, образующейся при ассимиляции CO_2 на окислительно-восстановительном барьере на границе вода–донные осадки или в придонных водах.

ГЕОХИМИЧЕСКАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ ГИДРОТЕРМ БАЙКАЛЬСКОЙ РИФТОВОЙ ЗОНЫ

Бархутова Д.Д.

ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ,
darima_bar@mail.ru

В наземных гидротермах развиваются микробные сообщества, активно участвующие в биогеохимических циклах углерода, серы, азота, синтезе и разрушении минералов, аккумуляции различных элементов.

С целью оценки геохимической деятельности микроорганизмов было изучено таксономическое и функциональное разнообразие микробных сообществ гидротерм Байкальской рифтовой зоны (БРЗ) с применением методов микробиологии, молекулярной биологии и биогеохимии.

Сравнительный анализ состава доминирующих таксонов в микробных матах, илах и воде гидротерм БРЗ выявил существенные различия в микробном сообществе в зависимости от экологических условий, в первую очередь от температуры. В высокотемпературной зоне преобладали филогенетически разнообразные группы - *Atribacteria*, *Nitrospirae*, *Chloroflexi*, при понижении температуры – *Proteobacteria*. Показано влияние микроэлементного состава воды на распространение и разнообразие микроорганизмов.

На основе количественных данных составлена схема резервуаров и потоков углерода в гидротермах БРЗ. Автономное функционирование микробного сообщества связано с тесной кооперацией продуцентов и анаэробных деструкторов. Большая часть органического вещества (более 65 %) образуется в процессе окислительного фотосинтеза. Аноксигенные фотосинтетики для синтеза органического вещества используют образованный в ходе сульфатредукции сероводород. На терминальных этапах деструкции основная часть органического вещества (до 97 %) используется в процессе сульфатредукции, тогда как на образование метана расход органического вещества не превышает 3%. Активность микробного сообщества гидротерм зависит от температуры воды. При снижении температуры (до 50-40 °C) скорость продукции увеличивается на 1-2 порядка.

Микроорганизмы гидротерм БРЗ являются активными биогеохимическими агентами и участвуют в образовании минералов, таких как кальцит, аморфный кремнезем, опал, пирит. Бактериальные экзополисахариды могут служить матрицей для аккумуляции металлов.

Тесные трофические взаимоотношения между различными группами микроорганизмов и высокая метаболическая активность позволяют им эффективно участвовать в трансформации органических и неорганических веществ минеральных вод в гидротермах БРЗ.

Исследования выполнены в рамках темы госзадания № госрегистрации
АААА-А17-117011810034-9



МЕТАБОЛИЗМ И ГЕНОМИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

БИОИНФОРМАТИКА МИКРОМИРА

Липидус А.Л.

Центр биоинформатики и алгоритмической биотехнологии СПбГУ,
Санкт-Петербург, a.lapidus@spbu.ru

Революция в методах молекулярной биологии последних 2-х десятилетий вызвала неуклонный рост данных, шквал которых особенно заметен в последние годы. Увеличивающиеся объемы информации и их разнообразие вызвали к жизни биоинформатику, которая за этот, сравнительно долгий уже срок, превратилась из «применения математических и компьютерных методов в биологии» в науку. И науку весьма могущественную. Сейчас уже невозможно найти такую область наук о жизни, которая не нуждалась бы в грамотных биоинформатиках (именно биоинформатиках, а не просто математиках и/или программистах).

Микроорганизмы заселили нашу планету несколько миллиардов лет назад задолго до человека и оказывают существенное влияние на все происходящее на земле и не только.

Исследование микробиот и их микробиомов помогает понять всепроникающее влияние микробных сообществ. Последние достижения в области секвенирования, протеомных и метаболических технологий, а также аналитических и вычислительных инструментов позволяют получить ценную информацию о биологии микробных сообществ, их разнообразии, влиянии на окружающую среду и их хозяев. Для проведения подобных исследований требуется интеграция таких разнообразных областей знаний как микробиология, геномика, биоинформатика, клеточная биология, биология развития, здравоохранение и медицина, сельское хозяйство и других.

Большие международные проекты, посвященные масштабным систематизированным исследованиям микромира планеты Земля, уже накопили огромные массивы данных, позволивших существенно расширить наше представление о дереве жизни, исследовать ранее неизвестные некультивируемые микроорганизмы, обнаружить новые вирусы и сделать множество революционных выводов о роли и влиянии микроорганизмов на все живое.

Предлагаемый доклад посвящен роли биоинформатики в реализации подобных комплексных исследований.

Работа поддержана грантом Российского научного фонда (РНФ) номер 19-16-00049.

МЕТАГЕНОМИКА КАК ИНСТРУМЕНТ ИЗУЧЕНИЯ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Кадников В.В.¹, Марданов А.В.¹, Карначук О.В.², Равин Н.В.¹

¹ Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

² Томский государственный университет, Томск

Традиционная микробиология, построенная на исследовании чистых культур, дала представление о разнообразии микроорганизмов, осуществляемых ими биохимических процессах, и роли в биосфере. С развитием молекулярных методов исследования микроорганизмов стало очевидно, что их истинное разнообразие на порядки превосходит число культивируемых видов, а более 99% микроорганизмов из природных экосистем не удается культивировать в лабораторных условиях. Так, из примерно 100 известных филумов прокариот около половины не имеют культивируемых представителей. Геномный анализ позволяет предсказать свойства организма даже без его культивирования, а для «некультивируемых» микроорганизмов



он является основным инструментом изучения. При этом используется два основных подхода. Метагеномика предполагает секвенирование коллективного генома (метагенома) микробного сообщества. Его анализ методами биоинформатики позволяет охарактеризовать состав и генетический потенциал микробного сообщества и выделить из метагенома геномы отдельных микроорганизмов. Второй подход – выделение единичных клеток микроорганизмов и расшифровка их индивидуальных геномов.

Объектами наших исследований были подземные термальные воды Западно-Сибирского региона, залегающие на глубине 2-3 км в породах мелового периода. Среди обнаруженных в них микроорганизмов менее половины относились к известным видам, а остальные представляли «некультивируемые» группы. Анализ метагеномов позволил получить около 50 геномов микроорганизмов, среди которых были представители «некультивируемых» филумов *Aminicenantes*, *Bipolaricaulota*, *Microgenomates*, *Atribacteria*, *Armatimonadetes*, *Riflebacteria*, WOR-3 и BRC1. В докладе будут представлены результаты геномного анализа этих бактерий, в том числе реконструкции путей метаболизма и анализа их функциональной роли в подземной биосфере. Построены экологические модели исследованных подземных экосистем.

Работы коллектива были поддержаны грантом РФФИ 19-14-00245.

МЕТАБОЛИТЫ ГРИБОВ ПОЛЯРНЫХ РЕГИОНОВ

Кочкина Г.А., Антипова Т.В., Желифонова В.П., Козловский А.Г.,
Иванушкина Н.Е., Тарлачков С.В., Озерская С.М.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН - обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Московская обл., г. Пущино, gak@dol.ru

Экстремально низкие температуры многолетней мерзлоты полярных регионов не лимитируют разнообразие мицелиальных грибов, часть из которых находится в законсервированном состоянии, а часть - способна к росту и развитию. Подавляющее большинство последних относится к классу *Ascomycetes*. Среди них особое место занимают представители родов *Penicillium* и *Pseudogymnoascus*, метаболизм которых адаптирован к низким температурам. Они могут вносить существенный вклад в рециркуляцию питательных веществ и минерализацию органического вещества в экстремальных экосистемах.

Эти грибы способны не только развиваться при низких температурах, но и менять метаболизм при действии стрессоров, к которым может относиться, в том числе, и загрязнение среды обитания нефтепродуктами. Исследования ненарушенных отложений и загрязненных нефтепродуктами почв Антарктиды позволяют говорить о существовании различий в структуре метаболитной активности грибов рода *Penicillium*, выделенных из разных образцов отложений полярных регионов. Показано, что разнообразие метаболитов, синтезируемых штаммами, выделенными из поверхностных антропогенно загрязненных отложений, значительно выше по сравнению с метаболитами грибов из уникальных глубинных многолетнемерзлых грунтов, имеющих возраст от 30 до 150 тысяч лет и никогда не подвергавшихся антропогенному воздействию. Увеличение числа метаболитов относится, в частности, к соединениям классов индольных алкалоидов и терпеноидов. Есть предположение, что участие грибов рода *Penicillium* в микоремедиации почв может потенциально активировать синтез этих микотоксинов.

Изменение метаболизма грибов при действии стрессоров – низкой температуры и повышенной солености изучалось на штамме *Pseudogymnoascus* sp. ВКМ F-3808. При анализе транскриптомов этого штамма показано, что около 5000 генов изменили экспрессию при действии стрессоров (повышенная концентрация соли - 10% NaCl, низкая температура - 0° С и сочетанное действие этих факторов) более чем в 2 раза, причем наиболее сильный транскрипционный ответ по числу генов, увеличивших экспрессию, наблюдался при холодовом стрессе. Были выявлены общие и частные типы метаболической реакции клеток на действие стрессоров. Ожидаемо увеличилась транскрипция генов биосинтеза стеролов, осмопротекторов, трансмем-



бренных транспортеров, а также генов синтеза жирных кислот и их десатурации. Кроме того, активизировались и не совсем очевидные пути ответа на действия стрессоров. Например, при стрессе увеличилась экспрессия генов, связанных с антимикробной активностью, а также генов, играющих важную роль в патогенезе грибов.

Работа поддержана грантом РФФИ №18-04-01347-а.

УГЛЕРОДНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ АНОКСИГЕННОЙ НИТЧАТОЙ ФОТОТРОФНОЙ БАКТЕРИИ *OSCILLOCHLORIS TRICHOIDES* DG-6 И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ЭВОЛЮЦИИ АНОКСИГЕННЫХ ФОТОТРОФОВ ПОРЯДКА *CHLOROFLEXALES*

Ивановский Р.Н.

Кафедра микробиологии Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова,
Москва, mguru@mail.ru

В современной биосфере восстановительный пентозофосфатный цикл (цикл Кальвина) с рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазой/оксигеназой в качестве ключевого фермента является доминирующим механизмом, посредством которого большинство прокариот и все растения фиксируют CO_2 . При этом общепринятая гипотеза о времени и механизме возникновения цикла Кальвина в современной литературе не сформирована. Можно предположить, что автотрофная ассимиляция CO_2 с использованием цикла Кальвина возникает на ранних этапах геологической эволюции Земли. Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии (АНФБ), относящихся к филуму *Chloroflexi* и располагающихся у самого основания универсального филогенетического дерева, обладают двумя механизмами автотрофной фиксации CO_2 : Згидроксипропионатным циклом (З-НОР цикл) и циклом Кальвина. Это давало основание рассматривать, представителей семейства *Oscillochloridaceae*, обладающих циклом Кальвина, в качестве возможных предшественников современных автотрофов, включая растения, обеспечивающих функционирование глобального углеродного цикла в современную геологическую эпоху. Однако, анализ биохимических особенностей, геномов и молекулярных часов у фототрофных представителей класса *Chloroflexia* показал, что приобретение способности к фототрофии сравнительно недавнее событие, произошедшее около миллиарда лет назад в период раннего протерозоя уже после оксигенации земной атмосферы. Прародителями АНФБ были нефототрофные аэробные нитчатые представители филума *Chloroflexi*. Последующие этапы эволюции фототрофных нитчатых бактерий привели к появлению видов способных к фотосинтезу и приобретению механизмов автотрофной ассимиляции CO_2 . Анализ геномов фототрофных представителей класса *Chloroflexia* показал, что они могут содержать в качестве механизма автотрофной ассимиляции CO_2 либо З-НОР цикл, либо цикл Кальвина. Наличие З-НОР цикла характерно для семейств *Roseiflexaceae* и *Chloroflexaceae*, а цикла Кальвина для семейства *Oscillochloridaceae*. Однако, при этом, виды *Kouleothrix aurantiaca* и *Chlorothrix halophila*, филогенетически близкие к *Roseiflexaceae* и *Chloroflexaceae* соответственно, ассимилируют CO_2 через цикл Кальвина, а филогенетически близкие к семейству *Oscillochloridaceae* *Chloroploca asiatica* и *Viridilinea mediisalina* используют З-НОР цикл. Это свидетельствует о мозаичности наследования генов фиксации CO_2 . Таким образом, сочетание биохимических методов исследования механизмов автотрофной ассимиляции CO_2 с методами сравнительной функциональной геномики открывает возможность реконструкции путей эволюции АНФБ.



БИОРАЗНООБРАЗИЕ НОВЫХ НИТЧАТЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА *BEGGIATOACEAE* И АНАЛИЗ ИХ ГЕНОМОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА

Грбович М.Ю.¹, Тарлачков С.В.²

¹ Кафедра биохимии и физиологии клетки, Воронежский государственный университет, Воронеж, margarita_grabov@mail.ru

² ФИЦ "Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук", Московская обл., г. Пущино

Идея хемолитотрофии, сформулированная С.Н. Виноградским на примере бесцветных серобактерий рода *Beggiatoa*, стала одной из ключевых для понимания метаболизма и биоразнообразия бактерий, расширяя наши представления о метаболических возможностях прокарриот. Хотя важность неорганических серных субстратов в качестве доноров электронов для *Beggiatoaceae* давно признана, до сих пор не удалось получить общую модель окисления соединений серы в этом семействе ввиду того, что большинство его членов в настоящее время не поддаются культивированию. До недавнего времени имелся лишь один валидно описанный вид – *B. alba*.

В нашей работе расширены представления о таксономическом разнообразии нитчатых пресноводных серобактерий семейства *Beggiatoaceae*, были описаны два новых таксона в составе семейства: *Beggiatoa leptomitiformis* sp. nov. и *Thioflexithrix pseukupensis* gen. nov., sp. nov. Проведен сравнительный анализ трех геномов новых культивируемых представителей в отношении путей, вовлеченных в окислительный метаболизм серы и S1-соединений. Интегрированы геномные, физиологические, биохимические и филогенетические данные, чтобы оценить, насколько широко распространены различные пути окисления соединений серы среди представителей *Beggiatoaceae* и можно ли их считать типичными для семейства.

Были исследованы причины, обуславливающие заметные фенотипические отличия штаммов *B. leptomitiformis* D-401 и D-402, геномы которых идентичны более чем на 99.9%. Штамм D-402 способен к литотрофному росту за счет окисления тиосульфата с образованием элементарной серы, в то время как у штамма D-401 на среде с тиосульфатом не выявлена литотрофия и накопление элементарной серы не происходит. Предварительный анализ генов, кодирующих ферменты, участвующие в метаболизме тиосульфата, соединений азота и автотрофной ассимиляции CO₂ (цикл Кальвина) у двух штаммов не выявил различий. Однако в результате сравнительного анализа полных геномов штаммов D-402 и D-401 было выявлено порядка 100 различий. Показано, что часть из них являются артефактами секвенирования и не могут рассматриваться в качестве значимых различий между геномами. Другие участки, в которых наблюдаются различия, представлены 16 вставками, из которых 14 являются транспозонами. Три транспозона, обнаруженные в геноме штамма D-401, попадают в кодирующие последовательности генов, предположительно выполняющих функции белковой оболочки серных глобул, трансмембранного транспорта тиосульфата и регуляторного белка, что может лежать в основе физиологических различий между изученными штаммами.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 18-04-00556.



ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНОВ У ТЕРМОФИЛЬНЫХ ПРОКАРИОТ: РАЗНООБРАЗИЕ МЕХАНИЗМОВ И ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ

Гаврилов С.Н.¹, Елизаров И.М.¹, Кубланов И.В.¹, Подосокорская О.А.¹,
Соколова Т.Г.¹, Слободкина Г.Б.¹, Тихонова Т.В.², Лопатин С.А.³, Тощakov С.В.¹,
Бонч-Осмоловская Е.А.^{1,4}

- (1) Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, (2) Институт биохимии им. А.Н. Баха,
(3) Институт биоинженерии – ФИЦ Биотехнологии, Москва;
(4) Кафедра микробиологии, Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,
Калининград

Большинство мест обитания микроорганизмов представлено гетерогенными системами с существенным количеством минеральной фазы и плотных конгломератов взаимодействующих между собой клеток прокариот (микробных матов, биоплёнок и т.п.). Внеклеточный перенос электронов (ВПЭ) является уникальным свойством прокариот, позволяющим им осуществлять прямой обмен электронами между клетками различных организмов в сообществе, а также получать энергию для роста при восстановлении минералов переменновалентных элементов. Среди таких соединений минералы Fe(III) являются наиболее распространёнными нерастворимыми акцепторами электронов в осадочных термальных экосистемах, где низкая растворимость кислорода и большая плотность минеральной фазы направляют эволюцию механизмов ВПЭ. В настоящее время, изучение этих механизмов у мезофильных бактерий привело к описанию процессов микробной биотрансформации минералов железа, открытию электрокаталитических свойств микроорганизмов и их электрохимических взаимодействий на макро-уровне (на сантиметровых расстояниях в осадочных экосистемах). Тем не менее, широкое разнообразие процессов ВПЭ у термофильных прокариот в природных и антропогенных термальных экосистемах остаётся мало изученным. Мы представляем обзор результатов наших исследований механизмов ВПЭ у нескольких филогенетически и физиологически различных термофилов. За последние несколько лет нами выявлено 2 ключевых механизма железоредукции у термофильных грамположительных бактерий – (1) с использованием клеточных выростов (пилей), образующих сеть, связывающую минеральные частицы с клетками, и (2) с использованием поверхностных мультигемовых цитохромов с-типа, имеющих слабое сходство с описанными ранее. Для представителей *p. Carboxydotherrnus* выявлены и описаны новые ключевые цитохромы, обуславливающие электрокаталитическую активность и биогенную кристаллизацию магнетита. У представителей *p. Carboxydocella* также выявлен ген предполагаемого цитохром-поринового комплекса, детерминирующего железоредукцию. Впервые выявлены гены цитохромов с, обуславливающие способность к ВПЭ у железовосстанавливающих архей. На примере гипертермофильной археи впервые показано использование полисахарида ксилана в качестве хелатора Fe(II) в процессе «железного дыхания». У граммотрицательной бактерии, представляющей новый филум *Ignavibacteriae*, выявлена ключевая роль нового периплазматического цитохрома с в восстановлении Fe(III). С учётом разнообразия мест и условий обитания исследованных организмов, наши данные указывают на потенциально широкое распространение способности к ВПЭ среди термофилов и существенную роль этого процесса в функционировании термофильных анаэробных микробных сообществ.



МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МИКРОБНЫХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Ревин В. В., Лияськина Е. В., Пестов Н.А., Новокупцев Н.В., Долганов А.В.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарёва, Саранск, revinvv2010@yandex.ru

В настоящее время наблюдается стремительный рост числа научных исследований, посвященных микробным экзополисахаридам. Это объясняется широким спектром их функциональных характеристик и перспективами практического применения. Целью исследований было получение функциональных материалов нового поколения с использованием высокопродуктивных штаммов бактерий и изучение их свойств методами ИК-, ЯМР-спектроскопии, рентгено-структурного анализа и т. д. Получены суперпродуценты ксантана, декстрана, левана, альгината и бактериальной целлюлозы. Разработаны функциональные материалы нового поколения: аэрогели, пленочные структуры, древесные биокомпозиционные материалы. Таким образом, микробные экзополисахариды имеют большие перспективы использования для получения функциональных материалов. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, проект №11.10882.2018/11.12.

Ключевые слова. Микробные экзополисахариды, функциональные материалы, продуценты.

МИКРОВОДОРОСЛИ В ФОТОБИОТЕХНОЛОГИИ: ГЛОБАЛЬНЫЕ ВЫЗОВЫ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Соловченко А.Е., Лобакова Е.С.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
solovchenko@mail.bio.msu.ru

Введение Ключевые вызовы современной цивилизации связаны с ростом населения на фоне истощения природных ресурсов (прежде всего, ископаемого топлива и минерального сырья), деградации экосистем (загрязнение окружающей среды, снижение биоразнообразия), изменения климата. Наиболее действенные ответы на глобальные вызовы включают широкое использование природосберегающих фотобиотехнологий на основе культивирования оксигенных фототрофных микроорганизмов (цианобактерий и микроводорослей). В докладе обсуждаются возможности современных фотобиотехнологий и трудности, связанные с их реализацией.

Материалы и методы Рациональный дизайн фотобиотехнологий включает получение (выделение) и отбор штаммов микроводорослей, соответствующих поставленной задаче (bioprospecting), грамотный выбор методов интенсивного культивирования (включая конструирование энергоэффективного фотобиореактора), сбора и переработки полученной биомассы, обеспечивающего масштабируемость и рентабельность процесса в целом.

Результаты и обсуждение Современные фотобиотехнологии условно делятся на несколько категорий. Быстрорастущие штаммы микроводорослей используются для получения возобновляемой биомассы — безопасного для окружающей среды сырья для производства энергоносителей, субстратов для тоннажного синтеза в «зеленой химии», материалов, биоудобрений, кормовых добавок. Каротиногенные и липидогенные штаммы являются источником биоактивных веществ и фармсубстанций. Важная категория — технологии для защиты окружа-



ющей среды и управления муниципальными и промышленными отходами. Культивирование микроводорослей позволяет изымать из сточных вод и дымовых газов парниковые газы, биогенные элементы (азот и фосфор), а также обеспечивает биоконцентрирование и (или) разложение опасных загрязнителей.

Заключение Современные фотобиотехнологии обладают высоким потенциалом для обеспечения устойчивого развития человечества. Основные сдерживающие факторы внедрения фотобиотехнологий – недостаток фундаментальных знаний о биологии микроводорослей и низкая рентабельность промышленных культивационных систем.

Работа выполняется при финансовой поддержке Минобрнауки России (соглашение 14.616.21.0081/RFMEFI61617X0080).

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ АНАЛИЗА БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕТИЛОМОВ. SMRT-ДНК СИКВЕНС; МЕТИЛОМНЫЙ АНАЛИЗ И 5mC СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ.

Фоменков А.

New England Biolabs, Ipswich Massachusetts, USA

ДНК метилирование совместно с системами рестрикции и недавно обнаруженными так называемыми Vrex системами играет существенную роль в защите бактериальных геномов от фаговой и плазмидной инфекций. Исследование ряда бактериальных геномов также указывает на роль метилирования в регулировании других клеточных функций, таких как ДНК репликация и экспрессия некоторых генов. Но распространенность и конкретные свойства таких метилаз которые не связаны с системами рестрикции- модификации до сих пор не достаточно изучены. Используя новую так называемую SMRT - single molecule real-time sequencing платформу разработанную компанией Pacific Biosciences, которая позволяет не только читать длинные последовательности геномной ДНК, собирать полноразмерные бактериальные геномы, но и также картировать эпигенетические модификации включая m6A и m4C. Детекция 5mC модификации обычно осуществляется с помощью химического бисульфатного метода секвенирования, который превращает не модифицированный цитозин в урацил с последующим превращением в тимидин после ПЦР амплификации. Нашей компанией разработан энзиматический аналог бисульфатного секвенирования, который не разрушает матрицу ДНК и позволяет проводить длинное секвенирование. Он требует деаминирования с помощью фермента Aробес для превращения не модифицированного цитозина в урацил и последующего превращения в тимидин после ПЦР амплификации. Окисление 5mC до 5hmC и 5caC ферментами типа Tet, также позволяет усилить сигнал при SMRT секвенировании. В дополнение нами также разработан метод полногеномного картирования 5mC модификаций с помощью метилзависимых рестрикционных нуклеаз гомологов фермента MspII. Таким образом современные методы позволяют достаточно легко идентифицировать эпигенетические модификации на ДНК и находить соответствующие гены модифицирующих ферментов в бактериальных геномах.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ЭРАДИКАЦИИ БИОПЛЕНОВ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА

Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, kairatr@yandex.ru

Staphylococcus aureus является одним из основных патогенов, вызывающих внутрибольничные инфекции. Многие заболевания обусловлены образованием биопленок этими бактериями на медицинских имплантатах (венозные катетеры, мочевые катетеры), слизистых оболочках,



поверхности кожных ран и язв. Биопленка представляет из себя сообщество микробных клеток, погруженных в сложный органический матрикс, состоящий из белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот. Этот матрикс обеспечивает диффузный барьер и поэтому бактерии в нем чрезвычайно устойчивы к противомикробным препаратам и иммунной системе человека. Это обуславливает необходимость разработки подходов к эрадикации сформированных биопленок и предотвращению их образования. В докладе рассматриваются различные способы борьбы с сформированными биопленками золотистого стафилококка, такие как 1) ферментативный гидролиз матрикса биопленки с помощью протеолитических ферментов; 2) использование различных хитозанов, в том числе с иммобилизованными на них ферментами; 3) обработка наночастицами серебра; 4) комбинирование классических антибиотиков с производными 2(5H)-фуранона; 5) эрадикация биопленок с помощью новых четвертичных аммонийных солей на основе пиридоксина; 6) интродукции бактерий-антагонистов в очаги воспаления. Обсуждаются достоинства и недостатки каждого из подходов и перспективы применения.

Работы выполнены при финансовой поддержке грантов РФФИ № 18-33-20051, РНФ 15-14-00046, 17-00-00456.

АКТИНОБАКТЕРИИ: КОЛОССАЛЬНЫЙ РЕСУРС ДЛЯ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Карлос Баррейро^{1,2}, Мариана Фил¹, Оскар Веласко-Родригес¹, Антонио Родригес-Гарсиа¹,
Алберто Сола-Ланда¹

¹ИНБИОТЕХ (Институт Биотехнологии г.Леон), г. Леон, Испания;

²Отдел Молекулярной Биологии Университета, г. Леон,
c.barreiro@unileon.es/carlos.barreiro@inbiotec.com

Введение: Актинобактерии – грамположительные бактерии, как правило, с высоким содержанием Г+Ц в ДНК. Этот филум, повсеместно распространенный как в водных, так и наземных экосистемах, представляет собой один из крупнейших бактериальных филумов. Он включает как одноклеточные коккоиды (*Micrococcus*) или палочковидные коккоиды (*Arthrobacter*), так и фрагментированные гифовые формы (*Nocardia*) или разветвленные мицелиальные бактерии, такие как *Streptomyces*. Актинобактерии производят разнообразный набор первичных (аминокислоты) и вторичных (антибиотики) метаболитов, или ферментов, и осуществляют биоконверсию (стероиды), что имеет большое социальное значение, так как эти вещества используются в фармацевтике, в качестве пищевых и кормовых добавок, а также важны в силу промышленного применения в белой биотехнологии. Актинобактерии представляют собой наиболее важную группу продуцентов вторичных метаболитов для промышленного применения, обеспечивая две трети всех антибиотиков природного происхождения, используемых в настоящее время в клинической практике. Помимо этого, филум также включает ряд широкоизвестных патогенов (представителей *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*).

Материалы и методы: Первым секвенированным геномом актинобактерий (1998) являлся геном возбудителя туберкулеза *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. В настоящее время представлены последовательности более 2600 геномов (полные или частичные). Это открывает путь для новых 'омикс – возможностей, таких как протеомные или транскриптомные исследования, позволяющие нам применять методологии синтетической и системной биологии для увеличения промышленного производства.

Результаты и обсуждение: ИНБИОТЕХ имеет большой опыт в области промышленной микробиологии, связанной с применением актинобактериальных видов. Микроорганизмы, выделенные из необычных природных мест обитания, таких как сгнившие деревья, представляют собой надежных «рабочих лошадок». В последние десятилетия в ИНБИОТЕХ собраны массивы данных по этим организмам (геномные последовательности, условия роста). Среди них, i) *Corynebacterium glutamicum* - продуцент аминокислот и дикарбоновых кислот; ii) *Mycobacterium* sp. - главный «биоконвертор» стероидов на промышленном уровне, и iii) представители рода



Streptomyces, используемые как модельные организмы - продуценты антибиотиков (пимарин), иммуносупрессоров (такролимус), сидерофоров (десферриоксиаминов). Эти виды актинобактерий позволяют нам продолжать исследования с целью создания надежных промышленных штаммов.

Заключение: Актинобактерии являются важными продуцентами биоактивных вторичных метаболитов для промышленного медицинского и сельскохозяйственного применения. Судя по достижениям последних 80 лет можно прогнозировать значительные успехи в производстве новых продуктов этими микроорганизмами.

Работа выполнялась в рамках проектов ЕС: i) ПроВуд (ProWood) по программе ERA-IB 7th call через APCIN MINEO (Испания) (ID: PCIN-2016-081), и ii) Синтероидз (ERA-CoBioTech 1st call) через Министерство Науки, Инноваций и Университетов Испании (Reference PCI2018-093066).

ACTINOBACTERIA: A HUGE SOURCE OF INDUSTRIAL APPLICATIONS

Carlos Barreiro^{1,2}; Mariana Fil¹; Óscar Velasco-Rodríguez¹; Antonio Rodríguez-García¹; Alberto Sola-Landa¹

1) INBIOTEC (Instituto de Biotecnología de León), Spain.

2) Departamento de Biología Molecular, Universidad de León, Spain
c.barreiro@unileon.es / carlos.barreiro@inbiotec.com

Introduction: *Actinobacteria* are Gram-positive bacteria traditionally considered as high G+C DNA content. This phylum, ubiquitously distributed in both aquatic and terrestrial ecosystems, constitutes one of the largest bacterial phyla. It includes from unicellular coccoid (*Micrococcus*) or rod-coccoid (*Arthrobacter*) to fragmenting hyphal forms (*Nocardia*) or mycelial branched genus, such as *Streptomyces*. *Actinobacteria* produce a diverse array of primary (aminoacids) and secondary (*antibiotics*) metabolites, or enzymes and develop bioconversions (steroids), which have a tremendous impact on society because of they are used for pharmaceutical activities, as well as, food and feed supplements and their industrial applications in white biotechnology. Therefore, they are the most important group of secondary metabolites producers with industrial application that results in about two-thirds of all naturally derived antibiotics in current clinical use. Besides, the phylum also includes worldwide recognized pathogens (*Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Propionibacterium*)

Materials and methods: The first sequenced genome of *Actinobacteria* was the human tuberculosis agent, *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv in 1998. Nowadays, more than 2600 genomes are fully or partially presented as a draft. It is opening the way to new omics possibilities as Proteomics or Transcriptomics, which is allowing us to apply Synthetic Biology and Systems Biology methodologies to enhance industrial production.

Results and discussion: INBIOTEC has a long experience in industrial *Actinobacteria* species. Those microorganisms that can come from unexpected natural isolation, such as decayed wood, are relevant workhorses. Along last decades accumulated data (e.g.: sequenced genome, established growth conditions...) have based the INBIOTEC development. Thus, i) *Corynebacterium glutamicum* as aminoacids or dicarboxylic acids producer, ii) *Mycobacterium* sp. as one of the main bioconverter of sterol in steroids at industrial level, and iii) the *Streptomyces* genus, which is used as model of development, producer of antibiotics (pimaricin), immunosuppressors (tacrolimus), siderophores (desferrioxamines), are *Actinobacteria* species that will allow us to go for a walk along one of the most industrially relevant microbial groups.

Conclusion: *Actinobacteria* species are essential as producers of a plethora of bioactive secondary metabolites involved in industrial, medical, and agricultural applications. Having a look to last 80 years, the future of new products derived from this huge bacterial group is amazing.

Special thanks to the EU projects: i) ProWood from the ERA-IB 7th call through the APCIN call of the MINECO (Spain) (ID: PCIN-2016-081), and ii) Syntheroids (ERA-CoBioTech 1st call) through the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (Reference PCI2018 093066).



Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Московская обл., Пущино,
vasilyevanv@rambler.ru

Глобальная проблема роста антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов заставляет вести интенсивный поиск продуцентов новых антимикробных агентов - антибиотиков, бактериолитических ферментов, антимикробных пептидов. В настоящее время отмечается повышенный интерес к представителям рода *Lysobacter*, продуцирующим различные антимикробные агенты, обладающие активностью в отношении бактерий, грибов, нематод и одноклеточных водорослей. Однако изучение этих бактерий ограничивается описанием их физиологических особенностей, связанных с их литической активностью, а данных по выделению и характеристике антимикробных веществ мало.

Первыми охарактеризованными биологически активными агентами у *Lysobacter* были антибиотик миксин и бактериолитические ферменты - и - литические протеазы. Продуцентов этих соединений сначала относили к неидентифицированным видам миксобактерий *Sorangium* sp. В 1978 году был сформирован род *Lysobacter* в который вошли в т.ч. и продуценты этих соединений, сейчас известные как *Lysobacter antibioticus* и *Lysobacter enzymogenes*, соответственно.

Представители рода *Lysobacter* продуцируют внеклеточные бактериолитические ферменты, глюканазы, липазы, хитиназы, короткие пептиды, антибиотики. Среди представителей рода выделяются штаммы, обладающие мощной литической активностью с широким спектром антимикробного действия. Такие штаммы, как правило, продуцируют литические комплексы, состоящие из разных антимикробных агентов и вспомогательных гидролитических ферментов. Продукция подобных комплексов делает некоторые виды этого рода перспективными для применения в сельском хозяйстве в качестве агентов биоконтроля, а также в медицине и ветеринарии в качестве продуцентов новых антибиотиков, бактериолитических ферментов и антимикробных пептидов.

В ИБФМ РАН изучаются бактерии рода *Lysobacter*. *Lysobacter* sp. XL1 продуцирует комплекс агентов, обладающих антимикробной и антифунгальной активностью. Широко известен антимикробный препарат Лизоамидаза, созданный в 80-х годах прошлого века на основе культуральной жидкости этой бактерии.

Одни из последних исследований показали способность этой бактерии образовывать внешнемембранные везикулы. Оказалось, что везикулы являются транспортным средством для доставки литических ферментов из клетки в окружающую среду. Открытием также стали результаты по изучению антимикробного потенциала везикул. Везикулы разрушали многие микроорганизмы, включая патогенные и множественноустойчивые к антибиотикам штаммы, а также обладали лечебным действием в отношении модельной сибиреязвенной инфекции и стафилококкового сепсиса у мышей.

Возможно, в природе *Lysobacter* использует везикулы для защиты и нападения на конкурентные бактерии, но полученные результаты натолкнули на мысль о создании высокоэффективных антимикробных препаратов на основе искусственных везикул – липосом и отдельных бактериолитических ферментов *Lysobacter*.

НОВЫЕ ТЕРМОФИЛЬНЫЕ АРХЕИ ИЗ ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКОВ КАМЧАТКИ: ЭКОЛОГИЯ И МЕТАБОЛИЗМ

Перевалова А., Меркель А., Кубланов И., Бонч-Осмоловская Е.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
annprv@gmail.com

Археи являются важным компонентом микробных сообществ многих экотопов нашей планеты. Молекулярно-экологический анализ природных микробных сообществ выявляет существенное число некультивируемых архейных линий, многие из которых если и не преобладают, то составляют весьма значительную часть сообщества. Сложности, связанные с культивированием архей в лаборатории, не позволяют в надлежащей мере исследовать метаболические особенности этих организмов. Для большинства так называемых некультивируемых архей на сегодняшний день отсутствуют экспериментальные данные об их метаболизме.

Несколько горячих источников кальдеры Узон (Камчатка) с различными температурами и pH воды были проанализированы с использованием метода высокопроизводительного секвенирования. Было обнаружено большое количество архейных линий, в том числе много некультивируемых. Особый интерес представляла группа A10 некультивируемых *Thermoplasmata*, так как в некоторых горячих источниках число представителей этой группы было довольно высоким (более 50%). Чтобы получить некоторую информацию о метаболических свойствах этой группы, мы попытались получить их в лабораторных культурах. Были разработаны 16S рРНК q-ПЦР специфичные праймеры для мониторинга и количественной оценки целевой группы в накопительных культурах. Нам удалось получить несколько первичных накопительных культур, растущих при 55-60°C, однако в последующих пересевах эта группа элиминировалась. Проба из горячего источника Камчатки (54°C, pH 6.1), в которой количество целевой группы архей составляло более 50% от общего микробного разнообразия, была выбрана для метагеномного секвенирования, по итогам которого было собрано два генома представителей группы A10. Полнота полученных геномов, оцененная по наличию маркерных генов, составила 93 и 96%. Дальнейший анализ показал глубокое филогенетическое положение выявленной группы в классе *Thermoplasmata*. Сочетание метагеномного и классического микробиологического подходов позволят нам пролить свет на физиологию и метаболические особенности новой группы архей. Последнее, в свою очередь, даст возможность определить их экологическую роль и метаболический потенциал.

Работа поддержана грантами РФФИ №17-74-30025 и РФФИ №18-34-00258.

ПСИХРОТОЛЕРАНТНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ АНТРОПОГЕННЫХ МЕСТ ОБИТАНИЯ

*Паршина С.Н.¹, Груздев Д.С.², Кострикина Н.А.¹,
Стрепис Н.³, Соуза Д.³, Стамс А.³, Ножевникова А.Н.¹*

¹ИНМИ им. С.Н.Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва;

²Центр Биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва;

³Университет Вагенингена, Нидерланды
sonjaparshina@mail.ru

Микробиологические процессы в холодных местах обитания, их микробный состав и особенно роль отдельных микроорганизмов мало изучены. Анаэробная переработка сточных вод при температуре окружающей среды развивается во многих странах как энергосберегающая



технология. Задачей исследования было выделение из низкотемпературных мест обитания изучение психротолерантных бактерий и метаногенных архей, которые могут быть использованы в биотехнологии.

Из осадка глубокого навозохранилища на юге России мы выделили два штамма психротолерантных метаносарцин, *Methanosarcina* sp. Pr1 и Pr2 и их спутника, психротолерантный вид рода *Sphaerocheta*. Психротолерантные метаносарцины были впервые выделены из антропогенного места обитания. Штаммы Pr1 и Pr2 имели различную морфологию. Штамм Pr1 рос на H₂/CO₂, Pr2 - нет.. Температуры роста Pr1 была 1-30 °C с оптимумом 21 °C, Pr2 рос при 5-35 °C с оптимумом 25-30 °C. ДНК-ДНК гибридизация Pr1 и Pr2 с *Methanosarcina lacustris* дали 53 и 42% сходства, а штаммов друг с другом 79%. Однако проведение сиквенса и анализа полных геномов показало сходство этих штаммов с *Ms. lacustris*, выделенной нами ранее из осадка пресноводного озера в Швейцарии. Выделение штаммов одного и того же вида из различных источников, расположенных в разных странах, представляет большой экологический интерес. Штамм PS - первый психротолерантный из рода *Sphaerocheta* (=DSM 26296, =VKM B-2809) (96% сходство со *Sph. globosa*) – неподвижная плейоморфная бактерия, использует многие субстраты, преимущественно углеводы и может расти при 2-33 °C с оптимумом 20-30 °C. Это был спутник метаносарцин, развивающийся в их полисахаридном матриксе. Когда они росли вместе, рост метаносарцин и образование метана были более интенсивными. При этом обе метаносарцины и сферохета способны расти в чистой культуре. Новый вид рода *Trichococcus* был выделен из синтрофного пропионат-окисляющего психротолерантного консорциума, полученного из психрофильного (8-12 °C) EGSB биореактора. Сиквенс гена 16S рПНК штамма был очень близок с сиквенсами нескольких других видов *Trichococcus* (99.7-99.9%), но уровни цифровой ДНК-ДНК гибридизации полных геномов были ниже, чем рекомендовано для создания нового вида, указывая, что штамм Art1T является новым видом рода *Trichococcus*. Грамм-положительные неподвижные кокки диаметром 0.5-2 µm, бывают одиночными, в парах, в виде коротких цепочек или небольших конгломератов, образуют экзополисахариды. Рост от -2 до 30 °C (оптимум 25-30 °C). Штамм *Trichococcus shcherbakoviae* Art1T (=DSM 107162T, =VKM B-3260T) использует некоторые углеводы, основными продуктами брожения были лактат, ацетат, формиат и метанол. Выделение нескольких психротолерантных штаммов бактерий и архей из низкотемпературных источников свидетельствует не об адаптации мезофильных микроорганизмов к росту при низкой температуре, но о селекции новых психротолерантных видов в местах их обитания..

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (грант № 18-29-25035).

СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ И РАЗНООБРАЗИЕ ПРОТИСТОВ В СОЛЕННЫХ ВОДОЕМАХ ПРИУРАЛЬЯ И ПРИЭЛЬТОНЬЯ

Плотников А.О., Селиванова Е.А., Пошвина Д.В., Герасимова Е.А., Хлопко Ю.А.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук, protoz@mail.ru

Несмотря на широкое распространение соленых озер, разнообразие обитающих в них протистов изучено крайне плохо, и особенно в гипергалинных водоемах с экстремальной соленостью (Hauer et Rogerson, 2005; Filker et al., 2017). Единичные работы посвящены оценке разнообразия протистов в гипергалинных континентальных водоемах с помощью высокопроизводительного секвенирования (Triado-Margarit et Casamayor, 2013; Wang et al., 2014; Filker et al., 2015; Filker et al., 2017).

Целью исследования была характеристика структуры и разнообразия сообществ протистов в соленых водоемах Приуралья и Приэльтона методом высокопроизводительного секвенирования 18S рДНК. Исследованы Соль-Илецкие озера в Оренбургской области, реки Приэльтона в Волгоградской области и озеро Кулат в Челябинской области. Пробы планктона и донных осад-



ков фильтровали через мембраны с диаметром пор 0,45 мкм. Тотальную ДНК экстрагировали фенол-хлороформным методом. ДНК библиотеки на основе фрагмента V4 18S рДНК готовили в соответствии с протоколом *Illumina* и праймерами TAREuk454FWD1 и TAREukRev3. Библиотеки секвенировали на MiSeq (*Illumina*). Биоинформатический анализ проводили с использованием USEARCH v8.0.1623_win32.

Наиболее многочисленными протистами в гипергалинных озерах были таксоны из супергрупп Archaeplastida, Stramenopiles, Rhizaria и Opisthokonta. Доминирующие виды и роды были специфичны для каждого водоема, но их число сокращалось по мере возрастания минерализации. Сообщества протистов из водоемов с одинаковой соленостью были более похожи, но, несмотря на это, доля специфических видов была выше, чем доля общих видов. Анализ таксономической структуры методом главных компонент (РCoA) показал группирование изученных сообществ протистов по солености и географической близости.

В заключение следует отметить, что таксономическая структура и видовое богатство протистов напрямую связаны с уровнем минерализации. Тем не менее, сравнение полученных результатов с опубликованными данными по соляным прудам (Filker et al., 2017) свидетельствует о специфике сообществ эукариот в континентальных гипергалинных водоемах Приуралья и Приэльтона. Нами обнаружено много новых последовательностей, демонстрирующих низкое сходство с базой данных GENBANK, свидетельствующих об обнаружении новых филогенетических линий протистов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ №17-04-02079.

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ С ПОВЕРХНОСТИ ПОЛИЭТИЛЕНТЕРЕФТАЛАТНЫХ МАТЕРИАЛОВ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ В ВОДНЫХ СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Турова Т.П.¹, Соколова Д.Ш.¹, Назина Т.Н.¹, Груздев Д.С.¹, Лаптев А.Б.²

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
inmi@inmi.ru; tptour@rambler.ru

²Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт авиационных материалов», Москва, admin@viam.ru

Проблема биостойкости полимерных материалов рассматривается с противоположных точек зрения. С одной стороны, экологической, биостойкость препятствует природной деградации бытовых отходов, изготовленных из этих материалов. С другой стороны, технической, биостойкость требуется при конструировании промышленного оборудования, детали которого изготовлены из полимеров.

Целью проводимого исследования был анализ состава бактериальных сообществ микробных обрастаний образцов полиэтилентерефталатных (ПЭТФ) материалов, помещенных в водные среды различного происхождения (промышленные, морские, пресные) в разных климатических регионах, а также *in silico* поиск в этих сообществах ферментов, участвующих в процессах деградации ПЭТФ. Состав бактериальных сообществ на образцах ПЭТФ определяли с помощью высокопроизводительного секвенирования фрагментов гена 16S рРНК. Биоинформатический анализ проводили с использованием онлайн-ресурсов QIIME, SILVA, RDP и ClustVis. Предполагаемые физиолого-биохимические характеристики бактериальных сообществ выявляли с использованием пакета программ iVikodak. В результате анализа был показан одинаковый состав доминирующих филумов/классов для всех групп образцов: *Bacteroidetes*, *Gammaproteobacteria* и *Alphaproteobacteria*. Однако количественное соотношение как доминирующих, так и минорных филумов заметно различалось для каждой из групп полученных библиотек, а внутри групп менялось в зависимости от времени экспозиции в водных средах и проведения антимикробной обработки. Аналогичные различия были получены и при анализе на родовом уровне. Согласно предсказанным функциональным характеристикам, возможно осуществление процесса



деградации образцов ПЭТФ бактериальным сообществом промышленных вод, поскольку для бактерий, входящих в это сообщество, показано присутствие ферментов, разлагающих промежуточный метаболит этого процесса – терефталевую кислоту, а также выявлены представители родов бактерий, возможно являющихся деструкторами ПЭТФ. Микрофотографии подтвердили локальное разрушение образцов ПЭТФ в результате экспозиции в промышленных водах, в то время как разрушений образцов ПЭТФ в морской воде обнаружено не было. Таким образом, прогнозирование биостойкости материалов и, наоборот, возможности утилизации полимеров бактериями может быть обеспечено с помощью анализа состава микробных обрастаний в среде, где эксплуатируется техника, или на поверхности утилизируемых материалов.

Исследование выполнено при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-05033).

РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДОННЫХ ОСАДКОВ ХОЛОДНЫХ ИСТОЧНИКОВ БУКСЫХЕН (СЕВЕРНОЕ ПРИБАЙКАЛЬЕ)

Банзаракцаева Т.Г., Дамбинова Е.Ц.

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, tuyana_banz@mail.ru

Около 85 % биосферы постоянно подвергаются воздействию температур ниже 5 °С. Исследования показывают, что низкотемпературные экосистемы успешно колонизированы микроорганизмами всех трех доменов (бактерии, археи, эукариоты).

Целью данной работы было изучение таксономического разнообразия микробного сообщества постоянно холодных источников Буксыхен (Северное Прибайкалье).

Таксономическое разнообразие прокариот изучали с помощью секвенирования гена 16S рРНК на платформе *Illumina* MiSeq.

Вода источников Буксыхен характеризуется низкой температурой (3,1 – 6,2 °С), нейтральной или слабощелочной реакцией среды (рН 7,4 – 8,6) и окисленными условиями (Eh 142 – 340 мВ).

Впервые было определено таксономическое разнообразие микробного сообщества донных осадков в двух выходах – Буксыхен–желудочный (Бук–жел) и Буксыхен–сердечный (Бук–серд). В микробном сообществе Бук–жел определено 24951 последовательностей, в сообществе Бук–серд – 24938 последовательности. В обоих исследуемых сообществах основу составляют представители филума *Proteobacteria* (67% и 70%). Содоминантами являются представители филумов *Actinobacteria*, *Tenericutes*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*. Несмотря на сходство экологических условий местообитания и состава доминирующих филумов, имеются различия в количественном составе данных таксонов. Так, в источнике Бук–жел количество последовательностей, относящихся к *Actinobacteria*, составило 11%, *Tenericutes* 4%. В источнике Бук–серд филум *Tenericutes* значительно преобладал над *Actinobacteria* (11% и 0,9%, соответственно). В обоих сообществах присутствовали *Bacteroidetes*: Бук–жел – 6%, Бук–серд – 9%. В осадках источников Бук–жел и Бук–серд количество последовательностей, отнесенных к *Firmicutes*, составило 2% и 5%, соответственно. Доля каждого из других представленных филумов не превышала 0,9%. Количество архей в сообществах составило 1 % от общего числа нуклеотидных последовательностей.

Анализ полученных данных выявил преобладание в сообществе илов холодных источников Буксыхен -протеобактерий, представленных фототрофными и хемоавтотрофными бактериями, осуществляющих синтез органического вещества. Также в сообществе присутствуют гетеротрофные бактерии, осуществляющие деструкцию органического вещества. Микробное сообщество исследуемых источников имеет широкий спектр метаболических возможностей для проведения бактериальных процессов трансформации вещества и энергии.



ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМ ПРОКАРИОТ В ПОЧВАХ ВОСТОЧНОЙ АНТАРКТИКИ

Кудинова А.Г., Петрова М.А., Маслова О.А.

Институт молекулярной генетики РАН, Москва
alina-kudinova91@mail.ru

Одним из способов переживания бактериями экстремальных условий окружающей среды является переход вегетативных клеток в жизнеспособные, но некультивируемые клетки, либо появление мелких и фильтрующихся форм прокариот (ФФП). Следует отметить, что физиология, таксономия и экологические функции таких клеток остаются пока малоизученными. Ранее в почвах Антарктиды было обнаружено значительное количество фильтрующихся форм прокариот по сравнению с почвами умеренных широт, но их таксономическое разнообразие также остается неизвестным.

Целью работы является определение таксономического разнообразия фильтрующихся форм прокариот в почвах оазиса Холмы Ларсеманн (Восточная Антарктика).

Объектами исследования служили антарктические почвы, различающиеся по содержанию органических веществ и отобранные в береговом оазисе Холмы Ларсеманн, который находится вблизи российской станции «Прогресс». В работе использовались методы молекулярного клонирования, высокопроизводительного секвенирования (NGS) и классический микробиологический метод посева на плотные питательные среды, для выделения культивированных клеток ФФП.

С помощью молекулярного клонирования из ДНК фракции ФФП было получено 57 клонов генов 16S рРНК бактерий, все они были отнесены к филуму *Proteobacteria*. Самый часто встречающийся клон (35 клонов) во всех библиотеках имел наибольшую сходимость с некультивированным бактериальным клоном, который наиболее близок к бактериям из класса *Deltaproteobacteria*, и был обнаружен при оценке бактериального разнообразия горных пород и подземных вод в Уезде Дунхай (Китай).

Также с помощью метода NGS было изучено таксономическое разнообразие ФФП в почвах оазиса Холмы Ларсеманн. Все OTU также принадлежали к филуму *Proteobacteria*. Доминирующим родом во всех трех образцах был некультивированный бактериальный клон из класса *Deltaproteobacteria*, который ранее был обнаружен с помощью метода молекулярного клонирования.

Из почвенного фильтрата было изолировано 15 штаммов бактерий, которые были идентифицированы с помощью секвенирования участка гена 16S рРНК. Большинство из них были отнесены к филуму *Actinobacteria*. Несколько штаммов (например *Rufibacter* sp. 96%, *Deinococcus* sp. 92%) имеют низкий процент идентичности с ближайшими видами, что позволяет предположить, что это могут быть новые виды бактерий.

Таким образом, пул ФФП из почв оазиса Холмы Ларсеманн представлен разнообразными родами протеобактерий, причем для доминирующей группы клонов ФФП не обнаружилось высокого сходства с каким-либо известным видом.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в суровых для большинства живых организмов условиях Антарктиды образование ФФП является одной из стратегий выживания почвенных бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 18-34-00658.



ВЕКОВАЯ ЗАГАДКА ПЛАНКТОМИЦЕТОВ РАЗГАДАНА: ИДЕНТИФИКАЦИЯ ТИПОВОГО РОДА И ВИДА, *PLANCTOMYCES BEKEFII*

Дедыш С.Н.^{1*}, Куличевская И.С.¹, Иванова А.А.¹, Филиппов Д.А.²

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный Исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, dedysh@mail.ru

²Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок

С момента описания первого представителя филогенетической группы *Planctomycetes*, некультивируемой пресноводной бактерии *Planctomyces bekefii*, прошло уже около ста лет. Род *Planctomyces* является типовым родом семейства *Planctomycetaceae* и порядка *Planctomycetales*. Как ни парадоксально, но типовой вид этого рода, *P. bekefii*, до сих пор описан только на основании морфологических критериев.

Настоящая работа ставила своей целью идентификацию и изучение биологии *P. bekefii* с помощью методов молекулярного анализа нового поколения, таких как высокопроизводительное секвенирование ампликонов гена 16S рРНК, флуоресцентная *in situ* гибридизация и метагеномный анализ. Микроскопический скрининг нескольких десятков пресноводных объектов позволил выявить клетки морфотипа *P. bekefii* в эвтрофном озере Вологодской области. Селективный отбор этих клеток из образцов воды с помощью клеточного сортера FACS ARIA III с последующим выделением ДНК и амплификацией гена 16S рРНК позволили идентифицировать целевые объекты в качестве представителей семейства *Planctomycetaceae*, обнаруживающих 88-91% сходства последовательностей генов 16S рРНК с ныне охарактеризованными планктомицетами. Корректность идентификации была подтверждена *in situ* гибридизацией целевых клеток с двумя флуоресцентно мечеными зондами, специфичными для полученных последовательностей гена 16S рРНК *P. bekefii*. Собранный в работе метагеном *P. bekefii* характеризует эти планктомицеты как аэробные организмы, специализирующиеся на использовании субстратов белковой природы, а также сульфатированных полисахаридов. Анализ сезонной динамики планктомицетов в озерной воде с помощью секвенирования ампликонов гена 16S рРНК по технологии *Illumina* MiSeq показал, что пик популяционной численности *P. bekefii* следует за вспышкой развития цианобактерий и микроводорослей, предполагая участие планктомицетов в деструкции клеток фототрофов. Анализ базы данных метагеномов подтвердил широчайшее распространение *P. bekefii* в пресноводных озерах различных континентов, причем большинство сходных последовательностей были получены в период их «цветения». Установление идентичности *P. bekefii* позволяет снять столетнее «инкогнито» этих микроорганизмов и осуществить соответствующую ревизию таксономической структуры порядка *Planctomycetales*.

СТРУКТУРА МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ВОДЫ МИНЕРАЛЬНОГО ИСТОЧНИКА ЧОЙГАН

Кашкак Е.С.^{1,2}, Данилова Э.В.², Бархутова Д.Д.²

¹ФГБОУ ВО «Тувинский государственный университет», Кызыл, klslena@yandex.ru,

²ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН», Улан-Удэ

Восточный Саян чрезвычайно богат самыми разнообразными типами минеральных вод, находящихся в непосредственной близости от вулканических излияний кайнозойского возраста. Наиболее широко исследуемыми разными учеными и широко используемыми местным населением и туристами в бальнеологических целях являются минеральные источники Чойган, расположенные в отрогах Восточного Саяна. Исследования разнообразия микробных сообществ данного источника немногочисленны и были проведены традиционными методами микробио-



логии и экологии. Использование современных молекулярно-биологических методов позволит значительно расширить представление о разнообразии микробного сообщества, их физико-химических границах существования и функционирования в исследуемом минеральном источнике.

Цель исследования – выявить структуру микробного сообщества воды источника Чойган.

Тотальную ДНК выделяли с помощью коммерческих наборов «ДНК-сорб» (АмплиСенс, Россия) и «Bacterial Genomic DNA kit» (Axygen, США). Метагеномный анализ V3-V4 переменных районов 16S рРНК проведен на секвенаторе «MiSeq» (*Illumina*) в ЦКП «Геномика» (г. Новосибирск). Для биоинформационного анализа полученных библиотек использовали ресурсы Pyrosequencing pipeline.

Микробное сообщество воды характеризовалось значительным видовым разнообразием, в котором выявлен 21 бактериальных филумов с преобладанием *Proteobacteria* (73%) и *Bacteroidetes* (16%). Доминирующими родами были *Hydrogenophaga* (19%), *Acidovorax* (6%), *Sediminibacterium* (5%) и *Gemmobacter* (5%). Также были обнаружены археи, которые относились к метанобразующим бактериям рода *Methanospirillum* (0,1%).

Методом высокопроизводительного секвенирования впервые исследовано разнообразие микробного сообщества воды источника Чойган. В воде источника формируется филогенетически и метаболически разнообразное микробное сообщество с преобладанием водород-использующих бактерий рода *Hydrogenophaga*, которые играют роль индикатора глубинных геохимических процессов и свидетельствуют о влиянии подземной гидросферы.

Исследование выполнено при поддержке грантов РФФИ 18-34-00552_мол_а, Главы Республики Тыва для поддержки молодых ученых.

НОВЫЕ ДАННЫЕ ОБ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ АНОКСИГЕННЫХ НИТЧАТЫХ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ФОТОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ

Гайсин В.А.¹, Kooger R.², Груздев Д.С.¹, Pilhofer M.², Горленко В.М.¹

¹ – ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
vasil.beingi@gmail.com

² – Institute of Molecular Biology & Biophysics, ETH Zurich, Zürich, Switzerland

Основной фокус исследований аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий (АНФБ), также известных как зеленые несерные бактерии, сосредоточен на их фотосистеме, основном метаболизме и экологической роли в цианобактериальных матах. Однако упускается из внимания, что АНФБ являются ярким примером многоклеточных прокариот с плохо исследованной цитологией.

Чтобы получить высококачественные данные об ультраструктурной организации АНФБ, мы исследовали клетки бактерий *Roseiflexus castenholzii*, *Chloroflexus aggregans* и '*Candidatus Viridilinea mediisalina*' с помощью крио-электронной микроскопии. Дополнительно мы провели филогенетический анализ последовательностей генов, ответственных за синтез некоторых клеточных структур.

Применение криоэлектронной микроскопии позволило выявить, что АНФБ отличаются значительной ультраструктурной сложностью, которая была скрыта ранее при исследовании химически фиксированных клеток. Например, бактерия '*Ca. Viridilinea mediisalina*' имела сложно устроенную клеточную оболочку с цитоплазматической и внешней мембраной, а также разные внешние слои в разных частях многоклеточной нити: S-слой на поверхности апикальной клетки в нити и фибриллярный слой на остальной поверхности нити. Состав внутриклеточных структур АНФБ также отличался ранее скрытой сложностью. Так, помимо ранее описанных гранул полифосфатов и полиалканатов, мы обнаружили третий тип внутриклеточных гранул. Кроме того, мы обнаружили внутриклеточные мембранные везикулы в исследованных видах, а также



структуры, напоминающие хеморецепторные кластеры и элементы цитоскелета в клетках бактерий *R. castenholzii* и '*Ca. Viridilinea mediisalina*'. Интересно заметить, что в целом мезофильная бактерия и '*Ca. Viridilinea mediisalina*' имеет более сложный фенотип, чем термофильная бактерия *R. castenholzii*, которая составляет базальную ветвь в группе АНФБ.

Очевидно, усложнение клеточной организации АНФБ происходило в результате адаптации мезофильных видов к условиям вне горячих источников, что сопровождалось приобретением соответствующих генов посредством горизонтального переноса. Важная роль горизонтального переноса для усложнения фенотипа АНФБ прослеживается при анализе филогений генов, ответственных за биогенез внутриклеточных гранул, газовых везикул и хлоросом. Однако более детальная реконструкция эволюции ультраструктурной организации АНФБ требует дальнейших исследований в области функциональной геномики. Работа была поддержана грантом европейского микробиологического сообщества (FEMS Research and Training Grant) и грантом РФФИ 19-04-00423.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭКОЛОГИЯ, ТАКСОНОМИЯ И ГЕНОМИКА ПРЕСНОВОДНЫХ МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ

Козяева В.В.¹, Дзюба М.В.¹, Узун М.М.^{1,2}, Алексеева Л.М.^{1,2}, Груздев Д.С.¹

¹ Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, vkoziaieva@mail.ru

² ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва

Способность к синтезу внутриклеточных органелл, называемых магнетосомы, является уникальной особенностью магнитотактических бактерий (МТБ). К МТБ относятся разнообразные по морфологии, физиологии и таксономии прокариоты, которые в настоящий момент были обнаружены в различных водных местах обитания. Во многих исследованиях изучение МТБ в основном строилось вокруг рода *Magnetospirillum* и порядка *Magnetococcales*, поскольку они, вероятно, получали преимущество при магнитном обогащении за счет высокой подвижности. Использование новых стратегий исследования дает возможность расширить знание о разнообразии МТБ в микробных сообществах, в том числе об эволюции генов биоминерализации магнетосом. Целью работы являлось выделение новых штаммов МТБ из природных мест обитания, в том числе чистых культур, определение их таксономического положения, а также характеристика особенностей их физиологии и организации геномов.

В работе были применены как стандартные методы обогащения магнитотактических бактерий и последующий филогенетический анализ последовательностей гена 16S рРНК, так и новые разработанные нами методы сепарации МТБ из природных источников и новый подход к изучению разнообразия на основе маркерного гена. Были получены чистые культуры спирилл, которые были описаны согласно критериям таксономического описания. Также были получены метагеномы некультивируемых МТБ, которые также были охарактеризованы согласно рекомендациям по описанию некультивируемых бактерий.

В ходе работы стандартными методами было проведено исследование разнообразия МТБ рек Москва и Уда, и озера Белое Бордуковское. В результате было обнаружено доминирование магнитотактических кокков порядка *Magnetococcales* в образцах р.Москва и р.Уда. Из р. Москва была получена чистая культура магнитотактической спириллы *Magnetospirillum moscoviense* BB-1, также была получена чистая культура спириллы *Ms. kuznetsovii* LBB-42 из озера Белое Бордуковское. Из обогащенной фракции магнитотактических кокков образцов р. Уда был получен геном кокка UR-1 и был проведен его анализ.



С помощью нового метода сепарации, не основанного на таксисе клеток, и с помощью разработанной праймерной системы на магнетосом-ассоциированный ген *matK*, было описано разнообразие МТБ озера Белое Бордуковское. Было показано доминирование МТБ филума *Nitospirae*, среди которых были выявлены новые таксономические группы МТБ и описан новый кандидатный вид '*Ca. Magnetomonas plexicatena*'. Также впервые были идентифицированы МТБ семейства *Syntrophaceae*.

Работа была поддержана грантом РФФИ 18-34-01005 мол_а.

СООБЩЕСТВО БАКТЕРИОФАГОВ В КИШЕЧНОМ МИКРОБИОМЕ ЛОШАДИ

Летаров А.В., Бабенко В.В., Куликов Е.Е., Голомидова А.К., Летарова М.А., Спасская Н.Н.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН

ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА РФ

Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, letarov@gmail.com

Введение. Бактериофаги являются неперенным компонентом подавляющего большинства природных микробных сообществ и составляют в них наиболее многочисленную группу вирусов. Это верно и для симбиотических микробиомов кишечника. Однако, только для человека исследования состава и динамики вирусного сообщества кишечника было осуществлено сколько-нибудь систематически.

Материалы и методы. Исследование проводилось с помощью классических культуральных методов, методов сравнительной геномики бактериофагов, молекулярно-биологических подходов, а также с помощью методов метагеномики.

Результаты и обсуждение. Культуральными методами показано, что ассоциированные с лошадьми колифаги представлены в основном вирулентными фагами. При этом сообщество колиформных бактерий крайне гетерогенно на штаммовом уровне, что позволяет поддерживать высокое разнообразие колифагов в индивидуальных экосистемах. Ведущим фактором разграничения популяций хозяев по доступности для тех или иных бактериофагов является, по-видимому, тип О антигена. Несмотря на выраженную динамику численности популяций, некоторые генотипы фагов персистируют у животных в течение длительного времени (годы). При этом фаги активно передаются между животными, что приводит к образованию локальных панвиромов у содержащихся вместе животных. Данные сравнительной геномики указывают, что, в отличие от лабораторных микркосмов, ведущим фактором микроэволюции в таких локальных является обмен генами с генетическим пулом сложного микробно-вирусного сообщества.

Метагеномная характеристика виромов лошадей указывает что высокое разнообразие характерно и для цельных вирусных сообществ. Состав вирома коррелирует с типом питания лошадей. При этом наблюдаются специфические репертуары вирусов, характерные для трех исследованных популяций (двух конюшен и популяции одичавших лошадей).

Выводы. Экология бактериофагов в кишечнике лошадей существенно отличается от таковой у человека. По своим свойствам кишечный микробиом лошадей представляет удобную модельную экосистему для экологической и эволюционной вирусологии и микробиологии.

Работа поддержана грантами РФФИ 18-29-13029 (метагеномика) и РНФ 15-15-00134 (культуральная работа).



ТЕРМОАЛКАЛИФИЛЬНЫЕ И ГАЛОАЛКАЛИФИЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ ПРОДУЦЕНТЫ ПЕПТИДАЗ

^{1,2} Лаврентьева Е.В., ¹Эрдыеева Е.Б., ¹Раднагуруева А.А., ³Дунаевский Я.Е.

¹ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ

²ФГБОУ ВО Бурятский государственный университет им. Д. Банзарова, Улан-Удэ, lena_l@mail.ru

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

В природных местообитаниях протеолитические бактерии являются важным компонентом микробных сообществ наземных экстремальных экосистем и занимают нишу первичных деструкторов, благодаря способности выделять внеклеточные пептидазы для гидролиза сложных белковых соединений.

Цель - изучить пептидазную активность у термоалкалофильных и галоалкалофильных бактерий, выделенных из экстремальных систем Внутренней Азии.

Из горячих источников Байкальской рифтовой зоны были выделены 13 аэробных термофильных протеолитических бактерий. На основе анализа последовательностей генов 16S рНК выделенные культуры отнесены к семействам Bacillaceae и Paenibacillaceae. Характерной особенностью выделенных бактерий была их способность к синтезу алкали- и термостабильных пептидаз, функциональная роль которых определяется субстратной специфичностью гидролитических ферментов и высокой энзиматической активностью в отношении используемых субстратов. Оптимумы активности находятся в диапазонах температур от 50 до 80 °С и в щелочной области рН. На основании субстратной специфичности и анализа активного функционального центра секретируемые внеклеточные пептидазы относятся к сериновым пептидазам субтилизин-подобного типа.

Из микробных матов и солевой корки озер пустыни Бадаин Жаран было изолировано 8 чистых культур протеолитических галофильных и алкалофильных бактерий, принадлежащие к семействам Bacillaceae и Halomonadaceae. Изученные бактерии являются умеренными алкалофилами и экстремальными галофилами. Показано, что секретируемые пептидазы гидролизуют белки и пара-нитроанилидные субстраты, проявляя максимальную активность по гидролизу LpNa. Особенностью изученных нами пептидаз были щелочность, с оптимумом и стабильностью рН от 6 до 10 и галофильность – изученные аминопептидазы выдерживают соленость до 200 г/л. Данные ингибиторного анализа и субстратной специфичности изученных внеклеточных протеаз указывают на их принадлежность к классу металлопептидаз аминопептидазного типа.

Таким образом, полученные результаты показали границы приспособляемости и функционирования выделенных бактерий в экстремальных условиях.

Работа выполнена в рамках темы госзадания № госрегистрации АААА-А17-117011810034-9, а также при финансовой поддержке гранта РФФИ № р_а № 18-44-030021 и Министерства образования и науки РФ № 6.9754.2017/БЧ.

МИКРОБНЫЕ СООБЩЕСТВА ЛИШАЙНИКОВ: РАЗНООБРАЗИЕ, ДИНАМИКА И МЕТАБОЛИЗМ

Панкратов Т.¹, Груздев Д.², Качалкин А.¹

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

²ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии», Москва, tpankratov@mail.ru

Лишайники являются пионерами при формировании новых экосистем и обладают высокой первичной продуктивностью. Они составляют около 15% общей биомассы тундровых, арктических и антарктических экосистем. В лишайниках микробные сообщества впервые обнаруже-



ны в 20-х годах 20 столетия, но их активное исследование началось лишь в начале 21 века. Интерес к микроорганизмам лишайников связан с поиском форм, способных к симбиотическим отношениям, фиксации атмосферного азота, солюбилизации нерастворимых минералов, проявлению антибиотической активности, стимулированию роста растений, а также в связи с их ролью в симбиогенезе лишайников.

Цель работы – оценить разнообразие бактерий и дрожжей эпи- и эндобионтов микробных сообществ лишайников, выявить их метаболические и экологические особенности. Объектами исследований стали кустистые лишайники севера России. NGS, FISH и высев на плотные питательные среды были основными методами анализа. Ключевым моментом стала пробоподготовка: десорбция поверхностной микрофлоры и гомогенизация талломов позволили отделить эпифитную часть микробного сообщества от эндофитной.

Эпифитные сообщества были представлены протеобактериями (α -, β -, γ -классами) и ацидобактериями. Доминантами эндофитных сообществ являются α -протеобактерии, ацидобактерии и планктомицеты. На основании данных NGS сделан вывод о том, что представители *Acetobacteraceae* являются облигатными эндобионтами в лишайниках рода *Cladonia*. Значительную долю в эндофитных сообществах составляют планктомицеты. В нескольких образцах обнаружены последовательности гена 16S рПНК нового филума WPS-2. Порядок *Rhizobiales* был представлен как уже известными бактериями семейств *Bradyrhizobiaceae* и *Methylobacteriaceae*, так и новым семейством '*Lichenibacteriaceae*' с новым родом *Lichenibacterium* и двумя новыми видами. В геномах обоих видов выявлены гены, участвующие в формировании симбиотических структур у высших растений, в частности ген TIGR02302. Выделен новый фотосинтезирующий психрофильный представитель *Acetobacteraceae*, который будет описан как новый род и вид. В работе получено и исследовано более 100 штаммов бактерий, способных стимулировать рост растений, проявлять антибиотическую активность, солюбилизировать нерастворимый фосфат.

Исследование дрожжевой микрофлоры лишайников северотаёжной и тундровой зон позволило обнаружить, что достоверно большее количество клеток дрожжей сосредоточено в апикальной части подцелиев талломов. Вид *Candida sphagnicola* доминировал на 14 видах лишайников. В эндофитных сообществах лидирующая роль принадлежала анаморфам тремелломицетов: *Solicoccozyma terricola*, *Phaeotremella sp.*, *Papiliotrema sp.* и др. Новые виды дрожжеподобных грибов выделены из эндобиомов лишайников рода *Cladonia*.

Микробиомы лишайников обладают высокой «научной ёмкостью», содержат новые для науки таксоны, доступные для культивирования и имеющие значительный биотехнологический потенциал. Наличие эндосимбионтов позволяет сделать предположение о существовании неисследованных механизмов интродукции бактерий и дрожжей в химически агрессивную среду лишайниковых талломов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 19-04-00297а.

СОСТАВ И СТРУКТУРА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ В ОЗ. БАЙКАЛ: ПОВЕРХНОСТНЫЙ МИКРОСЛОЙ ВОДЫ, ВОДНАЯ ТОЛЩА, ДОННЫЕ БИОПЛЕНКИ И ЭНДЕМИЧНЫЕ ГУБКИ

Белых О.И., Галачьянц А.Д., Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, belykh@lin.irk.ru

Одной из наиболее благоприятных сред обитания микроорганизмов являются водные экосистемы, где они достигают высокой численности и играют ключевую роль. Водные микробиоценозы достаточно хорошо изучены, в том числе и в оз. Байкал (Belykh, Drucker, 2018). В 2010 г. впервые методом метагеномного секвенирования нами установлен состав микробных сообществ воды и двух видов губок, позднее – поверхностного микрослоя.

Цель работы – сравнительный анализ микробиомов поверхностного микрослоя (бактерионойстон), водной толщи (бактериопланктон), донных биопленок (бактериобентос) и пяти видов губок, отобранных весной и летом 2010-2013 гг. в озере Байкал. Пробы воды, биопленок



и губок взяты на 14 станциях в пелагиали и литорали озера до начала масштабного «экологического кризиса», наблюдающегося в последние годы на Байкале. Выделение ДНК, амплификацию, метагеномное секвенирование и обработку данных проводили как описано ранее (Гладких и др., 2014).

В оз. Байкал определены состав и структура микробных сообществ воды, поверхностного микроскопа и биопленок каменистых субстратов, а также губок *Lubomirskia baicalensis*, *Baikalospongia intermedia*, *B. bacillifera*, *B. martinsoni*, *Swartschewskia papyracea*. Микробные сообщества воды и губок разделились на два кластера: «весенний» и «летний», в каждый из которых вошли образцы нейстона и планктона пелагиали и литорали, отобранные в трех котловинах, и микробиомы губок. Бактериальные сообщества губок разных видов характеризуются сходством состава и близки с бактериопланктоном пелагиали, наиболее уникальный состав свойственен глубоководной губке *S. papyracea*. Сообщества как «весенних», так и «летних» биопленок значительно отличались от микробиомов других экотопов и формировали собственную кладу. Доминирующими филумами весеннего кластера были *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, летнего – *Cyanobacteria*, донных биопленок – *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*. Наибольшим разнообразием отличались бактериальные сообщества губок, нейстона и бентоса, наименьшим – планктона.

Результаты сравнительного анализа микробиомов различных экотопов демонстрируют наибольшее значение сезонного фактора для состава бактериальных сообществ воды и губок, что, очевидно, определяется особенностями динамики фитопланктона оз. Байкал, характерными чертами которого является массовое развитие диатомовых водорослей весной, а летом – пикопланктонных цианобактерий.

ОБИЛИЕ И РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ И БАКТЕРИОФАГОВ В ПОЧВАХ РОССИЙСКОЙ АРКТИКИ

Лысак Л.В., Лыпыгина Е.В., Чекин М.Р., Бадмадашиев Д.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения,
Москва, lvysak@mail.ru

Изучение микробных сообществ почв Российской Арктики является актуальным в связи активным освоением Арктики в условиях изменяющегося климата и возможной деградацией мерзлоты.

Целью работы было изучение обилия и разнообразия прокариот и бактериофагов в почвах Российской Арктики – острова архипелага Земля Франца-Иосифа (ЗФИ) и Новая Земля (НЗ).

Исследовано 24 образца с ЗФИ (острова Алджера, Ферсмана, Хейса, Гукера, Земля Александры) и 8 образцов с НЗ (остров Северный). Численность одноклеточных прокариот, длину актиномицетного мицелия, численность бактериофагов определяли методом флуоресцентной микроскопии. Морфологическое разнообразие бактериофагов изучали при помощи просвечивающей электронной микроскопии. Разнообразие прокариотных сообществ охарактеризовано методом секвенирования последовательностей гена 16S рРНК.

Численность бактерий в исследованных образцах варьировала от 0,14 до 4,42 млрд. клеток/г. Максимальные показатели численности бактерий и длины актиномицетного мицелия зафиксированы в мохово-лишайниковой подстилке. Выявлено два типа распределения бактерий по профилю: в почвах со слабо развитым профилем – резкое снижение численности вниз, в почвах с развитым профилем – уменьшение показателей до горизонта ретинизации, где наблюдалось увеличение численности.

В верхнем горизонте 4 почв определена численность бактериофагов, она варьировала от 0.2 до 3.8 млрд./г, что составляло от 5 до 14% от численности бактерий. Бактериофаги представлены икосаэдрическими, хвостатыми и нитчатыми формами.

Бактериальное сообщество почв (5 образцов с НЗ), согласно метагеномным данным, сформировано преимущественно 10 филумами бактерий. Доминировали филумы *Firmicutes*,



Proteobacteria, *Actinobacteria*, в меньшее было *Verrucomicrobia*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, *Chlorobia*, *Bacteroidetes*, *Planctomycetes*, *Nitrospirae*, еще меньше *Ignavibacteria*, *Fibrobacteres*, *Gemmatimonadetes*, *Gracilibacteria* и других. Содержание домена Archaea не превышало 10%. Максимальное разнообразие выявлено в мохово-лишайниковой подстилке, минимальное в минеральных горизонтах.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой адаптивной способности прокариот в экстремально холодных местообитаниях и значительной потенциальной биологической активности исследованных почв.

ВЗАИМОСВЯЗИ И СУКЦЕССИЯ СООБЩЕСТВ БАКТЕРИЙ И МИКРОЭУКАРИОТ В ПЕЛАГИАЛИ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Михайлов И.С., Захарова Ю.Р., Галачьянц Ю.П., Букин Ю.С., Петрова Д.П., Усольцева М.В.,
Сакирко М.В., Лихошвай Е.В.

Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, mikhailov-89@mail.ru

Бактерии и микроэукариоты сосуществуют в водных экосистемах, формируя сети экологических взаимодействий, и выполняют ключевую роль в биогеохимических процессах экосистем. Корреляционные паттерны, выявленные по количественным данным и результатам высокопроизводительного секвенирования микробных сообществ и абиотическим параметрам используются для предсказания экологических взаимодействий между различными видами и средой обитания. Целью работы было выявить взаимосвязи и сукцессию (смену во времени) сообществ бактерий и микроэукариот в пелагиали озера Байкал. Пробы воды отбирали в фотическом слое (0-25 м) пелагиали Байкала. Для выявления взаимосвязей в сообществах бактерий и микроэукариот пробы были отобраны весной на 30 станциях озера. С помощью высокопроизводительного секвенирования фрагментов генов 16S рРНК и 18S рРНК определяли состав сообществ бактерий и микроэукариот, соответственно. Выявлено, что состав бактериальных сообществ в различных районах озера сходен, несмотря на существенные различия в составе фитопланктона. В бактериальных сообществах озера доминировали *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Cyanobacteria*. В сообществах микроэукариот доминировали *Dinophyceae*, *unclassified Eukaryota*, *Chrysophyceae*, *Chlorophyta*, *Ciliophora*, *Fungi*, *Cryptophyta*, *Haptophyceae*, *Cercozoa*, *Eustigmatophyceae*, *Dictyochophyceae*, *Diatom*. Выявлено, что операционные таксономические единицы (ОТЕ) бактерий или микроэукариот в основном положительно коррелируют друг с другом. ОТЕ, имеющие наибольшее количество взаимосвязей друг с другом, были представители *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Alphaproteobacteria*, и автотрофные и неклассифицированные эукариоты. Предполагается, что эти таксоны выполняют ключевую функцию в сообществах. В весенний период трех последовательных лет отличались корреляционные паттерны между биомассой отдельных видов фитопланктона, численностью гетеротрофных бактерий и параметрами среды (Si, PO₄³⁻, NO₃⁻, O₂, pH, температура).

В южной котловине Байкала в период с марта (подледный период) по сентябрь (8 временных точек) выявлена сукцессия сообществ бактерий и микроэукариот. Кластерный анализ показал, что сообщества одного сезона группировались вместе. Весной и летом в составе бактериальных сообществ доминировали *Actinobacteria* (*Acidimicrobinae*, *Actinomycetales*, *Ilumatobacter*), а осенью доминировали *Cyanobacteria* (*Cyanobium*). Доля *Betaproteobacteria* была выше весной и летом, чем осенью. *Flavobacterium* был представлен двумя популяциями, одна имела наибольшие доли в весенний подледный период, а другая летом. Кроме того, сезонная динамика выявлена у *Alphaproteobacteria*, *Gammaaproteobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*. ОТЕ микроэукариот сменялись во времени быстрее, чем бактериальные ОТЕ. В подледный период (март) доминировали *Dinoflagellata*, паразиты *Aphelida* и различные *Ciliophora*. В апреле доминировали *Diatom*, *Eustigmatophyceae*, *Chlorophyta*. В мае-июне продолжали развитие эти микроводоросли совместно с *Chrysophyceae*, *Ciliophora* и паразитическими *Fungi*. В июле увели-



чивались доля *Thoracosphaeraceae*, *Haptophyta*, *Choreotrichia*, а в сентябре доля *Chlorophyceae*, *Chrysophyceae*, *Chryptomonadales*. Выявлена взаимосвязь сукцессии микробных сообществ с изменением абиотических параметров среды обитания (температура, концентрации Si, PO₄³⁻, NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺).

Работа выполнена при поддержке темы МИНОБРНАУКИ 0345-2019-0001 (АА-АА-А16-116122110059-3), и интеграционной программы ИНЦ СО РАН № ААА-А-А17-117041250054-8.

НОВЫЕ МАГНИТОТАКТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ, ОБНАРУЖЕННЫЕ В МЕТАГЕНОМАХ ОТКРЫТЫХ БАЗ ДАННЫХ

Узун М.М.^{1,2}, Алексеева Л.М.^{1,2}, Круткина М.С.¹, Козяева В.В.¹, Груздев Д.С.¹

¹Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

²ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва, uzunmasha@gmail.com

Отличительной чертой магнитотактических бактерий (МТБ) является их способность к биоминерализации магнетосом - наноразмерных кристаллов магнетита (Fe₃O₄) или грейгита (Fe₃S₄), покрытых липопротеиновой мембраной. Синтез магнетосом контролируется специфическими генами, образующими магнетосомный геномный остров MAI (от англ. MAgnetosome Island).

На сегодняшний день не существует общепринятой гипотезы эволюции генов биоминерализации магнетосом в силу отсутствия достаточного количества геномных данных. В основном, эти гипотезы построены по результатам анализа MAI известных МТБ, большая часть которых обнаружена методом магнитной сепарации и принадлежит филумам *Proteobacteria* и *Nitrospirae*. С наступлением постгеномной эры появилось большое количество метагеномных данных в открытом доступе. Анализируя их, ученым ранее удалось найти MAI у представителей филумов *Latescibacteria* и *Planctomycetes*. Эти данные позволяют предположить, что разнообразие МТБ намного больше, чем предполагалось ранее. В связи с этим целью работы являлось расширение знаний о МТБ, в том числе об эволюции генов биоминерализации, посредством поиска новых геномов в открытых базах данных.

В настоящей работе для обнаружения генов биоминерализации магнетосом был проведен BLAST анализ 61410 бактериальных геномов и 10587 метагеномов из базы данных IMG. Для поиска потенциальных МТБ был выбран белок MamK, который кодируется одним из основных генов синтеза магнетосом и присутствует у всех известных МТБ. Таким образом, было обнаружено 5 геномов и 139 метагеномов, содержащих гены биоминерализации магнетосом. Далее метагеномы подвергались биннингу и деконтаминации. В результате, 40 геномов с полнотой сборки > 50% и контаминацией < 5% содержали MAI. Из них 32 кодировали синтез магнетосом магнетитового состава и 8 – грейгитового. Филогенетический анализ выявил новых представителей МТБ в филумах *Omnitrophica*, *Nitrospirae*, *Planctomycetes* и *Proteobacteria*. Кроме того впервые были обнаружены МТБ в филумах *Nitrospina*, *Candidatus Hydrogenedentes* и *Elusimicrobia*. Сравнительный анализ конкатенатов 120 белков корового генома и семи белков MAI (MamABIKPMQ) стал хорошей основой для выдвижения гипотезы о возможной эволюции генов синтеза магнетосом.



ПРОКАРИОТНОЕ СООБЩЕСТВО ВУЛКАНИЧЕСКОЙ СЛОИСТО-ОХРИСТОЙ ПОЧВЫ ПОЛУОСТРОВА КАМЧАТКА

Минаев Н.В.^{1,2}, Манучарова Н.А.¹, Певзнер М.М.²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова;

²Геологический институт РАН, Москва, karimovt@mail.ru

Исследование погребенных почв, как природных депозитариев, сохраняющих в себе свойства прошлых эпох, в последнее время является особенно актуальным. Вероятно, прокариотный комплекс почв, формирующихся в условиях активного вулканизма, обладает большим биотехнологическим потенциалом. Целью исследования явилась характеристика прокариотного комплекса погребенного органогенного горизонта вулканической слоисто-охристой почвы (WRB, 2006. Aluandic Andosols Dystric). В исследуемые образцы была внесена суспензия биополимера хитина (0.06% по массе), за счет чего достигалась реактивация метаболически неактивного прокариотного комплекса погребенной почвы. Измерения проводились на 1, 3, 10 и 30 сутки сукцессии. Определение численности бактерий, длины мицелия актиномицетов и грибов, а также их биомассы в почве осуществляли с помощью метода люминесцентной микроскопии. Динамика эмиссии диоксида углерода была изучена газохроматографическим методом. Филогенетическая структура микробного комплекса – молекулярно-биологическими методами: гибридизацией клеток *in situ* с рПНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными зондами (FISH), а также при помощи пиросеквенирования последнего поколения.

Нами установлено, что прокариотное сообщество погребенной пеплово-вулканической почвы представлено преимущественно представителями филумов *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, среди домена Archaea – Thaumarchaeota. Из них наибольшую метаболическую активность проявляли представители филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Установлено, что внесение хитина приводило к возрастанию эмиссии диоксида углерода микробным сообществом почв и увеличению суммарной прокариотной биомассы более чем в два раза. Впервые показано, что для вулканических почв Камчатки доля метаболически активных микроорганизмов достигает 50% от всех выявляемых прокариот. К десятым суткам сукцессии биомасса почвенного микробного комплекса, способного к разложению хитина возрастает в 1.5 раза по сравнению с контролем и достигает 0.04 мг/г образца. Основной вклад в увеличение биомассы сообщества вносят мицелиальные представители *Actinobacteria*.

Впервые для Камчатского полуострова проведены микробиологические исследования погребенной вулканической почвы подножия вулкана Шивелуч. Показана возможность выведения микробного сообщества из покоящегося состояния. Изучено изменение структуры прокариотного сообщества при внесении хитина. Выявленные доминанты *Proteobacteria* и *Actinobacteria* так же характерны и для других погребенных почв, что подтверждается исследованиями подкурганных и мерзлотных почв. Наличие представителей Archaea в группе среднего обилия является отличительной чертой исследуемых почв.



АНАЭРОБНОЕ ОКИСЛЕНИЕ СИДЕРИТА ТЕРМОФИЛЬНЫМ МИКРОБНЫМ СООБЩЕСТВОМ В АВТОТРОФНЫХ УСЛОВИЯХ

Заварзина Д.Г.¹, Кочеткова Т.В.¹, Чистякова Н.И.², Грачева М.В.², Меркель А.Ю.¹,
Перевалова А.А.¹, Бонч-Осмоловская Е.А.^{1,2}, Бычков А.Ю.², Гаврилов С.Н.¹

¹ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
zavarzinatwo@mail.ru,

² Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Анаэробное окисление железа микроорганизмами рассматривается как один из ключевых процессов образования железисто-кремнистых формаций докембрия (Cloud, 1968; Potsh et al., 2013). На сегодняшний день известно три возможных пути осуществления этого процесса: фототрофный (Widdel et al., 1993), нитрат-зависимый (Straub et al., 1996) и ацетогенный (Zavarzina et al., 2016). Целью работы было проверить возможность развития микробного термофильного сообщества в строго автотрофных условиях за счет анаэробного окисления сидерита (FeCO_3) - типоморфного минерала железистых кварцитов, объединяющего биогеохимические циклы железа и углерода.

Накопительная культура термофильных прокариот, полученная путем 10 последовательных пересевов в анаэробных автотрофных условиях на бикарбонатной среде Пфеннига (рН 6.8) с сидеритом (Бакальское месторождение, Урал) в качестве донора электронов, была инокулирована в биореактор для проведения кинетического эксперимента. Культуру инкубировали 60 дней при T 60 $^{\circ}\text{C}$, отслеживая изменения физико-химических параметров среды (E_h , рН, T) и отбирая пробы для определения таксономического состава микробного сообщества методом высокопроизводительного пиросеквенирования участков генов 16S РНК, общей численности культуры методом прямого счета клеток, анализа газов и летучих жирных кислот хроматографическим методом, анализа изменения минералогического состава твердой фазы методом Мессбауэровской спектроскопии. По окончании эксперимента был определен изотопный состав углерода твердой фазы и исследованы морфологические изменения сидерита методом сканирующей электронной микроскопии.

Накопительная культура, состоящая на 69% из представителей рода *Carboxydotherrmus* в процессе инкубации в биореакторе была вытеснена видами рода *Thermanaerothrix*. Соотношение остальных таксонов сообщества - *Thermodesulfovibrio*, *Paludibaculum*, *Chtonomonadetes* и *Thermaerobacter*, в процессе эксперимента практически не менялось. Общая численность микроорганизмов составляла в среднем $2-5 \cdot 10^7$ кл/мл. В ходе эксперимента было зафиксировано образование ацетата (максимум 0.2 мМ) и образование новых минеральных фаз – 7% магнетита (Fe_3O_4) и 23% сидерита, спектральные параметры и глобулярная морфология кристаллов которого были идентичны биогенному, образуемому термофильными железоредукторами (Чистякова и др., 2003).

Таким образом, доказана возможность развития термофильного микробного сообщества, получающего энергию за счет анаэробного окисления сидерита и восстановления углекислоты, приводящее к образованию магнетита – основного оксида железисто-кремнистых формаций докембрия. Появление биогенного сидерита, достоверно зафиксированное методом Мессбауэровской спектроскопии и сканирующей электронной микроскопии, может быть объяснено только обратным процессом железоредукции с магнетитом, выступающим в качестве акцептора электронов и ацетатом или другой органикой в качестве донора электронов.

ТОКСИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ МИКРОМИЦЕТОВ В РАСТЕНИЯХ: НОВЫЕ ДАННЫЕ И ГИПОТЕЗЫ

Кононенко Г.П., Буркин А.А.

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.П. Коваленко Российской академии наук», Москва, vniivshe@mail.ru; kononenkogp@mail.ru

Метаболиты микроорганизмов, ассоциированных с растениями естественных ботанических формаций, в последние годы все чаще используются для экспериментального изучения многообразия ценотических связей и экологических равновесий. Цель данной работы – сравнительная оценка комплекса токсинов микроскопических грибов у луговых травянистых растений семейств *Poaceae*, *Fabaceae*, *Cruciferae* и в лишайниках, представленных 55 видами 20 родов из семейств *Cladoniaceae*, *Parmeliaceae*, *Peltigerales*, *Umbilicariaceae*, *Teloschistaceae*, *Imadophylaceae*, *Lobariaceae* и *Nephromataceae*. Определение Т-2 токсина, диацетоксисцирпенола, дезоксиниваленола, зеараленона, фумонизинов группы В, эргоалкалоидов, альтернариола, роридина А, афлатоксина В₁, стеригматоцистина, циклопиазоновой кислоты, эмодина, охратоксина А, цитринина, микофеноловой кислоты и PR-токсина, свойственных представителям родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, проводили в водно-ацетонитрильных экстрактах измельченного воздушно-сухого материала с помощью непрямого конкурентного иммуноферментного анализа.

Согласно полученным результатам, у обследованных злаковых, бобовых и крестоцветных растений и в лишайниках состав и соотношение интенсивностей накопления микотоксинов обусловлены в основном принадлежностью к систематической группе – роду или виду и в малой степени подвержены влиянию внешних факторов. За полные циклы онтогенетического развития, краткие у трав и продолжительные у лишайников, принципиальных изменений их профиля не отмечалось. Встречаемость одних и тех же метаболитов свидетельствовала об общности таксонов токсинообразующих грибов, а выявленная вариабельность по числу компонентов и их количествам указывала на одинаково активную роль как высших, так и низших растений в формировании отношений с эндофитными микроорганизмами.

Эти данные позволяют предполагать, что каждое растение обладает устойчивым и своеобразным ресурсом по регулированию проникновения и последующего распределения микромицетов, а также наделено уникальными механизмами активации или ограничения функционирования генетически детерминированного аппарата биосинтеза грибами низкомолекулярных вторичных метаболитов. Обнаружение отчетливых различий в локализации микотоксинов по вегетативным и генеративным органам согласуется с гипотезой об их участии в механизмах адаптации высших растений к условиям обитания.



ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫХ БАКТЕРИЙ КАНДИДАТНОГО ФИЛУМА MICROGENOMATES ИЗ ПОДЗЕМНЫХ ТЕРМАЛЬНЫХ ВОД

Кадников В.В.¹, Белецкий А.В.¹, Марданов А.В.¹, Франк Ю.А.², Карначук О.В.², Равин Н.В.¹

¹ Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

² Томский государственный университет, Томск

Исследования природных микробных сообществ с использованием молекулярных методов показали, что, как правило, более 99% микроорганизмов из природных экосистем не удается культивировать в лабораторных условиях. Около половины из примерно 100 известных филумов прокариот не имеют культивируемых представителей. Одной из крупнейших некультивируемых групп бактерий является так называемая Candidate Phyla Radiation, отдельная филогенетическая ветвь, представляющая более 15% всего биоразнообразия бактерий и потенциально включающая несколько десятков филумов. Эти бактерии имеют редуцированные геномы и ограниченные возможности метаболизма, что указывает на паразитический образ жизни и неспособность к автономному росту.

Целью нашей работы был поиск и геномный анализ представителей Candidate Phyla Radiation в глубинных подземных водах для анализа метаболизма этой линии бактерий и их функциональной роли в подземной биосфере. Объектом данного исследования являлись подземные термальные воды Западно-Сибирского региона, залегающие на глубинах 2-3 км в мезозойских осадочных породах. Отбор воды проводили из нефтепоисковой скважины 5Р, пробуренной до глубины 2.8 км в районе поселка Чажемто Томской области. В результате секвенирования метагенома термальных вод с использованием технологий *Illumina* и Oxford Nanopore были получены четыре полных кольцевых генома бактерий кандидатного филума Microgenomates (OP11), входящего в Candidate Phyla Radiation. Проведена аннотация полученных геномов, включающая идентификацию генов и предсказание их функций. Размеры геномов составляют от 801 до 902 тыс. нт., а число белок-кодирующих генов – от 833 до 941. В докладе будут представлены результаты геномного анализа этих бактерий, в том числе особенностей их эволюции и организации генетического аппарата, реконструкции путей метаболизма, вероятной функциональной роли в подземной биосфере.

Работа поддержана грантами РФ (19-14-00245) и РФФИ (18-34-00617).

ВЫДЕЛЕНИЕ *DESULFOVIBRIO* ИЗ МИКРОБИОМА ПАЦИЕНТА С АУТИЗМОМ И ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОЙ СВЯЗИ ЕГО АКТИВНОСТИ С ДИСБАЛАНСОМ ЖЕЛЕЗА

Бухтиярова П.А., Иванов М.В., Анциферов Д.В., Глухова Л.Б., Иккерт О.П.,
Карначук О.В.

Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет,
Томск, poljan4ik@mail.ru

Исследования последних лет свидетельствуют о существовании оси кишечник-мозг и вовлеченности микробиома желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) в этиологию расстройств аутистического спектра (РАС). Исследования сообщества ЖКТ у пациентов с РАС молекулярными методами продемонстрировало увеличение доли сульфидогенных *Desulfovibrio* по сравнению с нейротипичными индивидуумами. Роль этой группы и возможная связь с патологией остается непонятой. Отсутствие чистых культур затрудняло изучение возможной связи *Desulfovibrio* с патогенезом. В этом исследовании мы сообщаем о выделении первой чистой культуры *Desulfovibrio* из микробиома кишечника пациента с РАС и его возможном участии в снижении концентрации биодоступного железа в организме.

Накопительные сульфидогенные культуры были получены из проб фекалий детей из возраст-



ной группы от 7 до 13 лет с диагностированным РАС. Активное восстановление сульфата наблюдали в культуре с добавлением лактата в качестве донора электронов, из которой в дальнейшем был получен чистый изолят, обозначенный штамм AY5. Филогенетический анализ последовательности гена 16S рРНК показал, что штамм относится к роду *Desulfovibrio* и его ближайшим родственником является *Desulfovibrio desulfuricans* DSM 642 со сходством последовательностей 99.72%. Эксперименты по выращиванию *D. desulfuricans* AY5 в биореакторе в режиме рН-стата показали, что: (1) штамм является ацидотолерантным и растет при рН=4.5; (2) культура может иммобилизовать железо из раствора путем образования кристаллических сульфидов устойчивых к реокислению; (3) образование кристаллических форм сульфидов железа зависит от рН среды.

Недостаток железа является одной из известных характеристик пациентов с РАС. Повышенное содержание СРБ, включая *Desulfovibrio*, может приводить к снижению концентрации биодоступного железа в ЖКТ. Образование кристаллических нерастворимых форм сульфидов железа наиболее активно происходит при рН=5.5 и, вероятно, приурочено к верхним отделам ЖКТ.

Исследования поддержаны Российским научным фондом.

ВОЗНИКНОВЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОДА: ФАКТОРЫ ОТБОРА ПРОТОБИОМОНОМЕРОВ ПРИ КОЭВОЛЮЦИИ КОДОНОВ И ПУТЕЙ СИНТЕЗА АМИНОКИСЛОТ

Саралов А.И.

Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, saralov@iegm.ru

Для объяснения происхождения генетического кода выдвинут ряд взаимодополняющих гипотез. Успешно развивается теория перехода от информационно-каталитического РНК-мира у первичных форм жизни к организмам на основе ДНК и белков. Слабее изучены факторы отбора необходимых компонентов для создания прообраза генетического кода от абиогенеза до начальных биогенных стадий. Начало химической эволюции логично связывать с гидротермальными геофизическими процессами на древней Земле, с химическими элементами живого организма – основы состава любого соединения. Первичный отбор минимального числа мономеров из хаотичного многообразия органических соединений мог происходить в зависимости от их строения, молекулярной массы (M), температуры плавления ($t_{пл}$) и растворимости в воде. Впервые установлено, что на диаграммах в координатах M и $t_{пл}$ протеиногенные аминокислоты вместе с кодирующими их кодонами располагаются согласованно с четко обособленными семействами пуриновых и пиримидиновых оснований. В свете теории коэволюции кодонов и путей синтеза аминокислот, модифицирована схема, отображающая связи последовательных метаболических превращений питательных веществ и протеиногенных аминокислот с кодирующими их кодонами. Отмечено существенное повышение $t_{пл}$ при прямом аминировании кетокислот при замене атома кислорода на NH_3 . При этом M увеличивается лишь на 1. Например, в метаболическом семействе пирувата перевод пирувата в Ala сопровождается скачкообразным увеличением $t_{пл}$ с 14 до 316 $^{\circ}C$, «кетовалина» в Val – с 32 до 315 $^{\circ}C$, «кетолейцина» в Leu – с 10 до 295 $^{\circ}C$ ($t_{пл} : M$ с 0.08 до 2.25). Процесс замещения атомов кислорода атомами азота закономерно осуществлялся и при синтезе пиримидиновых и особенно пуриновых гетероциклических оснований: кислород полностью был исключен из состава аденина ($C_5H_5N_5$).

Тем самым показано, что закономерные изменения элементного состава, M , $t_{пл}$ и $t_{пл} : M$ при первичном отборе компонентов нуклеиновых кислот, протеиногенных аминокислот и их прекурсоров служили важными факторами при коэволюции системы генетического кодирования. Причем в данной работе впервые рассмотрена температура плавления протобиомонимеров в качестве детерминирующего фактора отбора специфичных компонентов для создания прообраза генетического кода.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: 01201353247.



ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОВ ОКИСЛЕНИЯ Н-АЛКАНОВ У ШТАММОВ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ АВТОМОБИЛЬНОГО И РЕАКТИВНОГО ТОПЛИВ

Шапиро Т.Н., Дольникова Г.А., Лобакова Е.С.

МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва, floyd52@rambler.ru

Аварийные разливы нефти и нефтепродуктов (Н и НП) при добыче и транспортировке – главные причины загрязнения почв и акваторий. Н и НП состоят из линейных и разветвленных алканов, ароматических углеводородов (АУ), смол и асфальтенов (*Kohn et al.*, 2002). Работа посвящена выявлению генов деградации н-алканов у штаммов бактерий, выделенных из автомобильного и реактивного топлив. Для выявления генов, кодирующих алканогидроксилазы, ключевые ферменты первой стадии деградации н-алканов, были выбраны пять наборов ПЦР-праймеров.

Штаммы бактерий, выделенные из бензина марки АИ-95 (*Bacillus sp.* Bi14, *B. pumilus* Bi12, *B. safensis* Bi13, *Paenobacillus agaridevorans* Bi11) и реактивного топлива ТС-1 (*Sphingobacterium multivorum* Bi2, *Alcaligenes faecalis* Bi3, *Rhodococcus jialingiae* Bi4, *Sphingobacterium mizutaii* Bi5, *R. erythropolis* Bi6, *Deinococcus sp.* Bi7, *Stenotrophomonas sp.* Bi8, *S. maltophilia* Bi9, *Rhodococcus sp.* Bi10) (Шапиро и др., 2018), выращивали на универсальной среде (Лысак, 2003), выделение ДНК из биомассы проводили с помощью Thermo Scientific MagJET Plant Genomic DNA Kit. Амплификацию генов *alkB*, *Cyp153*, *Alk1*, *Alk2* и *Alk3* проводили, как описано Ивановой и др. (2014).

Установлено, что ген *Alk2*, характерный преимущественно для бактерий *p. Acinetobacter*, отсутствует у всех исследованных штаммов. Бактерии, выделенные из реактивного топлива ТС-1, кроме штамма *Deinococcus sp.* Bi7, содержат как минимум один из исследованных генов деградации н-алканов. У штаммов *A. faecalis* Bi3, *R. jialingiae* Bi4 и *R. erythropolis* Bi6 обнаружено 4 гена деградации н-алканов - *alkB*, *Cyp153*, *Alk1* и *Alk3*. Штаммы бактерий, выделенные из бензина АИ-95, не содержат исследуемые гены. Исключением является штамм *P. agaridevorans* Bi11, имеющий ген *Cyp153*. Полученные результаты согласуются с данными по способности выделенных штаммов к росту на жидких и твердых средах в присутствии 1% н-алканов с разной длиной углеродной цепи. В составе ассоциаций бактерий, развивающихся в топливах, выявлены штаммы продуценты (*B. safensis* Bi13, *B. pumilus* Bi12 и *Deinococcus sp.* Bi7) экзо- и эндоПАВов, веществ, повышающих доступность УВ для клеток, и штаммы (*Bacillus sp.* Bi14 и *S. maltophilia* Bi9) активно использующих в процессе роста АУ.

В каждом виде проанализированного топлива развивается специфическая ассоциация микроорганизмов, состав и сукцессия которой определяется составом углеводов.

АНАЭРОБНЫЕ ПРОКАРИОТЫ ИЗ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ: УРОКИ АНАЛИЗА ГЕНОМОВ

Щербакова В.А., Трубицын В.Э., Трошина О.Ю., Рыжманова Я.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина ФИЦ ПНЦБИ РАН,
vshakola@gmail.com

В настоящее время изучение микроорганизмов постоянно холодных мест обитания, к которым относятся многолетнемерзлые отложения Арктики, является бурно развивающейся областью микробиологии, о чем свидетельствует значительно возросшее за последние 10 лет количество описаний новых таксонов, относящихся ко всем трем доменам жизни. Однако, свойства микроорганизмов, находящихся под воздействием отрицательных температур в течение геологического времени, остаются слабоизученными.



Целью исследования стал первичный анализ геномов бактерий и архей из вечной мерзлоты, который может дать ключ к пониманию их адаптационных возможностей по отношению к низкой температуре и низким энергетическим потокам в среде обитания. Секвенирование и аннотация геномов двух штаммов анаэробных бактерий и трех штаммов метаногенных архей проводились в рамках проекта “*Genomic Encyclopedia of Type Strains, Phase III (KMG-III)*” в DOE Joint Genome Institute в США. Для анализа геномов использовали ресурсы PATRIC (<https://www.patricbrc.org/>) и JGI (<https://jgi.doe.gov/>).

Анализ геномных последовательностей выделенных нами из вечной мерзлоты метаногенов (*Methanobacterium arcticum* M2T, *M. veterum* MK4T, *Methanosarcina mazei* JL01) и бактерий (*Sphaerochaeta associata* GLS2T, *Desulfovibrio gilichinskyi* K3ST) позволил обнаружить особенности организации геномов исследованных штаммов. Так, геном *S. associata* GLS2T показал, что эта бактерия нуждается в ряде аминокислот, обладает набором генов для утилизации метанхондроитина – компонента клеточной стенки метаносарцин, а также генами для транспорта осмопротектора глицин бетаина, который может производить *Methanosarcina mazei* JL01, что объясняет их тесную кооперацию. Полученные результаты показали, что происхождение метаногенов, выделенных из вечной мерзлоты и находящихся в условиях отрицательных температур разное время, слабо повлияло на организацию их геномов.

Использование полученных данных в дальнейшем позволит подобрать условия для выделения новых криофильных анаэробных прокариот. Дальнейшее изучение биологических особенностей уже описанных и новых микроорганизмов, а также расшифровка, анализ и сравнение уже полученных геномов позволит обнаружить ранее неизвестные процессы, связанные с новыми источниками энергии для микроорганизмов в подобных экстремальных экосистемах.

КАРТИРОВАНИЕ САЙТОВ ИНИЦИАЦИИ ТРАНСКРИПЦИИ И ПРОФИЛИРОВАНИЕ ПОЛНЫХ ТРАНСКРИПТОМОВ БАКТЕРИЙ В КУЛЬТУРАХ И ПАТОСИСТЕМАХ

Гоголев Ю.В.¹, Исмаилов Т.Т.¹, Осипова Е.В.¹, Балкин А.С.²,
Савастьянов А.С.³, Гоголева Н.Е.¹

¹Казанский институт биохимии и биофизики ФИЦ Казанский научный центр РАН,

²Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН,

³Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,
gogolev.yuri@gmail.com

¹Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, ²Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis UB RAS,

³National Research University Higher School of Economics

Не смотря на бурное развитие высокопроизводительного секвенирования, изучение бактериальных РНК остается сложной задачей. В первую очередь это вызвано неожиданной сложностью транскриптомов бактерий. Применение технологии Cappable Seq дало нам возможность получить полные транскриптомные профили *Pectobacterium atrosepticum* и *Salmonella enterica* в культурах и эукариотических организмах-хозяевах. Для каждого вида картировано более 20 тысяч стартов инициации транскрипции (TSS) с точностью до 1 нуклеотида. Получены профили дифференциальной экспрессии генов и синтеза не кодирующей РНК (нкРНК). Показано, что большинство TSS нкРНК картируется вблизи регуляторных элементов генов и обнаруживает положительную корреляцию активности с ними вне зависимости от взаимной ориентации транскрипции.

Эксперименты по секвенированию РНК проведены при поддержке РФФИ (проект №17-14-01363). Биоинформатическая часть работы поддержана РФФИ (грант №17-04-01908).



ДЕЙСТВИЕ НЕБЕЛКОВОЙ АМИНОКИСЛОТЫ БМАА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И АЗОТНОГО МЕТАБОЛИЗМА В ЦИАНОБАКТЕРИИ *ANABAENA SP. PCC 7120*

Попова А.А.^{1,2}, Семашко Т.А.³, Кокшарова О.А.^{1,4}

¹Институт молекулярной генетики РАН, Москва, alexandra.a.popova@gmail.com,

²Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

³Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины, Москва

⁴Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Небелковая аминокислота -N-метиламино-L-аланин (БМАА) синтезируется различными видами цианобактерий и диатомовыми водорослями. БМАА биоаккумулируется на различных трофических уровнях. Накопление этой аминокислоты в организме человека связывают с развитием нейродегенеративных заболеваний. Поскольку синтез БМАА фитопланктоном представляет потенциальную угрозу для здоровья человека, важным представляется выяснение причин, механизмов и регуляции синтеза этого цианотоксина в природе, его биологической роли в клетках бактерий-продуцентов.

С целью изучения роли БМАА в метаболизме цианобактерий мы использовали модельный штамм нитчатой азотфиксирующей цианобактерии *Anabaena sp. PCC 7120* (А. 7120). Этот штамм способен к фиксации атмосферного азота в условиях отсутствия связанных форм азота в среде роста. Для осуществления этого процесса А. 7120 образует специализированные покрытые полисахаридной капсулой клетки – гетероцисты, которые защищают фермент нитрогеназу, осуществляющую процесс азотфиксации, от инактивации кислородом. В ходе работы было показано, что микромолярные концентрации экзогенно добавленного БМАА приводят к подавлению активности нитрогеназы в уже сформированных гетероцистах культуры А. 7120. Результаты ПЦР в реальном времени показали, что в присутствии цианотоксина подавляется экспрессия гена *nifH*, кодирующего одну из субъединиц нитрогеназы. Было показано, что добавление БМАА ингибирует процесс формирования гетероцист в условиях голодания по азоту. Обнаружено, что БМАА негативно влияет на экспрессию двух ключевых генов клеточной дифференцировки (*hetR* и *hetA*). Ген *hetR* кодирует регуляторный белок HetR, связывающийся с промоторами нескольких генов, участвующих в регуляции формирования гетероцист. Продукт гена *hetA* необходим для синтеза полисахаридной капсулы гетероцист.

Противоположный эффект БМАА был обнаружен при росте цианобактерии на среде со связанным азотом. В контроле экспрессия генов *hetR* и *hetA* в условиях избытка азота отсутствует, и гетероцисты не формируются. Однако, при добавлении БМАА экспрессия этих генов возрастает, что, по-видимому, запускает начальные стадии формирования гетероцист и приводит к образованию гетероцистоподобных нефункциональных клеток. Полученные результаты позволяют задать новые вопросы о регуляции молекулярных механизмов, определяющих дифференцировку клеток и контроль азотного метаболизма у азотфиксирующих цианобактерий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00412.



СВЯЗЬ МЕЖДУ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННЫМИ СКАЧКАМИ E_h И АККУМУЛЯЦИЕЙ ЭКСТРАКЛЕТОЧНОГО H_2S В АЭРОБНЫХ КУЛЬТУРАХ *ESCHERICHIA COLI*

Октябрьский О.Н., Тюленев А.В., Смирнова Г.В., Музыка Н.Г., Ушаков В.Ю.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермский федеральный исследовательский центр, Пермь, oktyabr@iegm.ru

Ранее было установлено, что в аэробных культурах ряда бактерий, подверженных стрессу, наблюдается резкое изменение окислительно-восстановительного потенциала (E_h) в область восстановительных значений. Скачки E_h обнаруживались платиновым электродом, когда рост прекращался из-за истощения углерода или азота, теплового шока, а также в культурах, обработанных определенными антибиотиками. Известно, что в аэробно растущих культурах микроорганизмов основным фактором, определяющим значение E_h , является концентрация кислорода. Во время роста O_2 расходуется на дыхание и, соответственно, E_h постепенно падает в область восстановительных значений. Когда рост прекращается, потребление O_2 резко снижается, концентрация растворенного кислорода увеличивается, и, согласно теории, следует ожидать изменения E_h в сторону окислительных значений. Однако в описанных выше ситуациях E_h быстро снижался в область восстановительных значений. В некоторых случаях амплитуда скачка E_h достигала 150 мВ. Ингибирование генерации скачков E_h SH-реагентами указывало на возможность участия низкомолекулярных тиолов (HMT) в этом процессе. У *Escherichia coli* это могут быть глутатион (GSH), цистеин (Cys) и сероводород (H_2S).

В работе исследовалась роль HMT в генерации скачков E_h при голодании и стрессах, вызванных действием антибиотиков. E_h и уровни внеклеточного сульфидов в аэробных культурах *Escherichia coli*, растущих на среде M9, измеряли в режиме on line с помощью платинового и ионоселективного электродов. Внеклеточный L-цистеин и GSH определяли в образцах, полученных быстрой фильтрацией через мембранные фильтры.

Обнаружено, что скачки E_h , происходящие в указанных выше стрессовых ситуациях, являются результатом аккумуляции экстраклеточного H_2S от 43 до 140 нМ. Выявлена тесная связь между трансмембранными потоками сульфидов, цистеина и глутатиона. Представлена модель, согласно которой ингибирование синтеза белка при стрессах приводит к кратковременному увеличению внутриклеточного цистеина, что в присутствии свободного железа создает опасность окислительного стресса. Для поддержания гомеостаза цистеина на безопасном уровне его поток перенаправляется на синтез глутатиона с последующим оттоком избытка GSH в среду. Другая часть цистеина экспортируется в среду в свободной форме. Наконец, еще одна часть цистеина подвергается десульфуризации и свободный сульфид диффундирует в среду, где и взаимодействует с платиновым электродом, снижая его потенциал.

При определенных условиях регистрация уровня сульфидов с использованием E_h и сульфидных сенсоров может быть полезной для контроля бактериальных культур в научном эксперименте и биотехнологии. Результаты опубликованы в журнале «Bioelectrochemistry», 2018, 121, 11-17.

Работа выполнена в соответствии с госзаданием № 01201353249 и поддержана грантами РФФИ № 19-04-00888 и Программы УрО РАН №AAAA-A18-118041890005-1.



РОЛЬ МАЛИК-ФЕРМЕНТА В МЕТАБОЛИЗМЕ СЗ- И С4-СОЕДИНЕНИЙ У ОБЛИГАТНЫХ МЕТАНОТРОФОВ

Розова О.Н., Хмеленина В.Н.

ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»,
Пущино, Московская обл., rozovaolga1@rambler.ru

Метанотрофы – бактерии, использующие для роста метан, – перспективный субстрат для биотехнологий. Малик-фермент – компонент ФЕП-Пируват-Оксалоацетатного узла реакций, является возможной мишенью для модификации метаболизма метанотрофов-продуцентов.

Цель работы – изучение свойств и роли малик-фермента у двух облигатных метанотрофов I (*Methylobacterium alcaliphilum*) и II (*Methylosinus trichosporium*) типов.

Методом клонирования генов *malE* и их экспрессии в клетках *Escherichia coli* Rosetta (DE3) были получены рекомбинантные малик-ферменты и изучены их биохимические свойства.

Показано, что малик-фермент из *Ms. trichosporium* – гомогексамер (6х81 кДа), катализирует обратимую НАДФ⁺-зависимую реакцию декарбоксилирования малата до пирувата в присутствии K⁺ и Mg²⁺, обладает более высокой активностью в направлении декарбоксилирования малата (36 Е/мг белка), по сравнению с реакцией карбоксилирования пирувата (7 Е/мг белка). Малик-фермент из *Ms. trichosporium* – химерный белок, содержит С-домен, гомологичный фосфоацетилтрансферазам, ответственный за правильную олигомеризацию фермента и ингибирование активности ацетил-КоА.

Малик-фермент из *M. alcaliphilum* – тетрамер (4х65 кДа), катализирует НАД⁺-зависимую необратимую реакцию декарбоксилирования малата до пирувата с удельной активностью 32 Е/мг белка в присутствии Mg²⁺. Инактивацией гена *malE* доказано участие фермента в регуляции уровня малата в клетках метанотрофа.

Малик-ферменты у метанотрофов I и II типов различаются биохимическими свойствами, коррелирующими с путями ассимиляции углерода и характеризуются низкой гомологией аминокислотной последовательности. У *Ms. trichosporium* малик-фермент выполняет «липогенную функцию», являясь источником НАДФН, у *M. alcaliphilum* фермент возвращает «избыточный» малат в основной метаболизм, синтезируя при этом НАДН. Малик-ферменты двух метанотрофов являются компонентами малатного шунта, побочный продукт которого, ФФн, – энергетически важная молекула в метаболизме этих бактерий.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (№18-04-00771).

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПРОБИОТИКОВ: ПОЛЕЗНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ

Яруллина Д.Р., Анисимова Е.А., Горохова И.В., Каримуллина Г.Р., Алкубайли Р. И.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
kasfes@gmail.com

Устойчивость пробиотических бактерий к антибиотикам, с одной стороны, является желательным свойством, поскольку только антибиотикорезистентные штаммы можно совмещать с антимикробной терапией для профилактики антибиотик-ассоциированного дисбактериоза. С другой стороны, мобильные и приобретенные гены антибиотикорезистентности (АР) посредством горизонтального переноса генов могут передаваться от пробиотических бактерий другим бактериям, в том числе патогенным, а сами пробиотики могут стать резервуаром для сохранения и распространения генов АР в кишечном микробиоме человека.

Цель работы: характеристика устойчивости пробиотических штаммов лактобацилл к антибиотикам различных классов и оценка мобильности ее генетических детерминант.

Объектом исследования стала коллекция лактобацилл, выделенных нами из коммерческих



пробиотических препаратов, и новых штаммов, выделенных из желудочно-кишечного тракта человека, кисломолочных продуктов и растительного материала. Устойчивость к 25 антибактериальным препаратам 17 различных классов оценена диско-диффузионным методом и методом микроразведений. Для обнаружения генов АР использован метод ПЦР с последующим секвенированием полученных амплификатов. Исследована возможность горизонтального переноса генов АР от лактобацилл к условно-патогенным кишечным бактериям в ходе конъюгации и трансформации.

Охарактеризованы профили АР лактобацилл и их резистомы. Среди исследованных лактобацилл широко распространена устойчивость к ципрофлоксацину, ванкомицину, аминогликозидам, цефалоспорином 3 и 4 поколения и чувствительность к бета-лактамам, карбапенемам, макролидам, клиндамицину, рифампицину, тетрациклину и хлорамфениколу. Обнаружен целый ряд молчащих генов АР. Отобраны штаммы, несущие гены устойчивости к тетрациклину и эритромицину, которые часто бывают мобильными. По результатам исследования мобильности генов АР, только у *L. fermentum* 5-1 обнаружена способность передавать ген устойчивости к тетрациклину в клетки *Citrobacter freundii* в ходе трансформации.

Полученные данные необходимы для составления обоснованных тактических схем применения пробиотических лактобацилл при этиотропной антибактериальной терапии и способствуют созданию пробиотиков, соответствующих самым строгим требованиям лекарственной безопасности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект РФФИ-17-00-00456).

ВЛИЯНИЕ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ С РАСТЕНИЯМИ

Турковская О.В.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов,
turkovskaya_o@ibppm.ru

Введение (актуальность) и цель работы. Биоценозы испытывают колоссальные нагрузки в виде антропогенных загрязнителей различной природы. Среди них одно из «приоритетных» мест занимают полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), поступающие в окружающую среду в результате природных и техногенных процессов. В самоочищении природной среды от ПАУ главная роль принадлежит процессам биodeградации, осуществляемой сообществами микроорганизмов и растений, при этом метаболическая система деградации ПАУ распределена между разными членами сообщества. В то же время, ПАУ и продукты их микробного расщепления как биологически активные молекулы могут влиять на сигналинг в растительно-бактериальных симбиозах, нарушая их нормальное функционирование. Целью работы явился анализ возможного участия ПАУ в растительно-микробных взаимодействиях.

Материалы и методы. Ризосферный штамм-деструктор ПАУ *Ensifer meliloti* P221 (IBPPM 383) и растение сорго веничное (*Sorghum bicolor*). ПАУ – фенантрен (0,01 и 0,1 г/кг кварцевого песка). Литературные данные.

Результаты исследования. Обмен партнеров молекулярными сигналами происходит при любых типах симбиотических взаимодействий. В регуляции растительно-микробных симбиозов участвуют многочисленные вещества: фитогормоны, фитоалексины, ферменты и пр. Среди них есть соединения, близкие по структуре к молекулам ПАУ. Например, растительные флавоноиды, являются инициаторами молекулярного диалога между растениями и ризобиями в бобово-ризобийном симбиозе. Есть данные, что фермент флавонолсинтаза катализирует деградацию как дигидрофлаванола, так и фенантрена. Фермент нафталиндиоксигеназа штамма *Pseudomonas putida* участвует в катаболизме нафталина и синтезе ИУК. Одной из систем защиты растений является синтез и накопление фитоалексинов, среди которых есть изофлавоноиды



и дигидрофенантрены, образующиеся в ответ на заражение растений фитопатогенами. Салициловая кислота, являющаяся ключевым метаболитом бактериальной деструкции многих ПАУ, играет важную роль во всех типах симбиотических растительно-микробных отношений. Перечисленные выборочные данные указывают на пересечение структурных и функциональных свойств ПАУ и ряда вторичных метаболитов растений и микроорганизмов. В этой связи есть основания предполагать, что присутствие токсичных агентов в виде таких поллютантов как ПАУ, с высокой долей вероятности могут внести изменения во взаимодействия микро- и макропартеров.

С использованием искусственно создаваемой ассоциации *Ensifer meliloti* P221 (IBPPM 383) – сорго веничное (*Sorghum bicolor*) нами изучены эффекты влияния ПАУ на взаимоотношения в ассоциации. Показано, что фенантрен понижает PGPR-эффект штамма, но усиливает активность оксидоредуктаз в корневых экссудатах. При этом повышение активности пероксидаз, тирозиназ и оксидаз, вызванное ПАУ и штаммом по-отдельности, в случае их совместного присутствия в ризосфере сорго, носило аддитивный характер, механизм которого пока не известен.

Заключение. Таким образом, ПАУ как вещества, циркулирующие в биосфере практически со времени возникновения Земли, вписаны в природные циклы круговорота веществ, однако в условиях их чрезмерного поступления в результате антропогенных процессов, они способны оказывать существенное токсическое действие и вмешиваться в межорганизменные диалоги в биоценозах.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-29-05062).

СИСТЕМЫ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В КЛЕТКАХ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Брюханов А.Л.

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
биологический факультет, Москва
brjuchanov@mail.ru

Сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) относят к анаэробным микроорганизмам, однако представители многих родов способны сохранять метаболическую активность в биотопах, подвергающихся воздействию кислорода – микробных матах, активных илах, прибрежных морских осадках, сточных водах. СРБ являются наиболее аэротолерантной группой строгих анаэробов, обладая эффективными системами антиоксидантной защиты. Помимо обычных ферментов детоксикации активных форм кислорода (супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидазы различных подклассов), их клетки содержат уникальные ферменты с супероксидредуктазной и НАДН-зависимой пероксидазной активностями. У ряда СРБ имеются также электрон-транспортные цепи, необходимые для снижения внутриклеточной концентрации кислорода.

Целью работы является изучение феномена устойчивости СРБ к микроаэробным условиям, в частности, за счёт тонкой регуляции цитоплазматических, мембранно-связанных и периплазматических компонентов их антиоксидантных систем.

Для изучения адаптивных ответов клеток СРБ использовали комплекс микробиологических (рост культур при различных окислительных стрессах), биохимических (измерения активностей антиоксидантных ферментов и скоростей поглощения O₂, определение цитохромного состава) и молекулярно-биологических (получение мутантных штаммов, qRT-PCR, геномный анализ) методов.

Полученные результаты показали высокую устойчивость СРБ родов *Desulfovibrio*, *Desulfofrigus* и *Desulfosporosinus* к кислородным (0,1%–10%), пероксидным (0,05–1,0 мМ) и паракватным (2,0–100 мкМ) стрессам. Показана важная роль супероксиддисмутазы, супероксидредуктазы, каталазы, тиоловой пероксидазы, алкилгидропероксидредуктазы, рубреритринов Rbr1/Rbr2, нигеритрина и регулятора PerR в антиоксидантной защите СРБ. Синтез соответствующих мРНК



у подвергнутых умеренным окислительным стрессам культур усиливался до 8,6 раз в течение 30–45 мин, существенно возрастали и ферментативные активности, в особенности, каталазы. Сильные же окислительные стрессы приводили к снижению экспрессии генов антиоксидантной защиты для уменьшения вероятности образования $\text{OH}\cdot$ в реакции Фентона с высвобождающимися из белков ионами Fe^{2+} . В клетках СРБ с высокой скоростью поглощения O_2 (до 100 нмоль/мин/мг белка) обнаружены рубредоксин : кислород оксидоредуктаза, цитохром bd убухинолоксидаза и цитохром c оксидаза.

Изучение взаимодействия клеток СРБ с кислородом необходимо для понимания экологических особенностей этих важнейших бактерий глобального цикла серы и их применения в биоремедиации от тяжёлых металлов и радионуклидов, а также для использования СРБ в качестве оптимальной модели анализа сложных клеточных ответов на воздействие активных форм кислорода.

Работа была выполнена при частичной финансовой поддержке грантов РФФИ 12-04-91052-НЦНИ_а, 16-54-150011-НЦНИ_а и 18-04-00622-А.

АНАЛИЗ ДВУХ ВИРОМОВ ОЗ. БАЙКАЛ

Потапов С.А.¹, Тихонова И.В.¹, Краснопеев А.Ю.¹, Кабилов М.Р.², Тупикин А.Е.², Белых О.И.¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Лимнологический институт СО РАН, Иркутск

²Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск,
poet1988@list.ru

В исследовании представлены результаты генетического анализа ДНК-содержащих вирусов в планктоне оз. Байкал. Среди исследований виромов до сих пор немногочисленны работы по пресным озёрам.

Для концентрирования вирусной фракции и выделения ДНК отобраны пробы в южной котловине оз. Байкал в подлёдный и раннелетний период. С каждого горизонта от 0 до 50 м отбирали по 3,5 л и смешивали для получения интегральной пробы. Затем пробу фильтровали через поликарбонатные фильтры с диаметром пор 0,4 мкм (Millipore, США) для удаления фито- и зоопланктона. Фильтрат концентрировали с помощью систем ультрафильтрации до объема ~100 мкл. Для получения свободных вирусных частиц проводили обработку пробы ДНКазой (Thermo Fisher Scientific, США). ДНК выделяли стандартным фенол-хлороформным методом. Полученные ДНК-библиотеки секвенировали по технологии *Illumina* (США) на приборе Miseq в ЦКП «Геномика» (г. Новосибирск).

Основная часть идентифицированных последовательностей вирусов принадлежала хвостатым бактериофагам из порядка Caudovirales, который объединяет в себе семейства: *Siphoviridae*, *Podoviridae*, *Myoviridae*. Самыми представительными родами в виромах были литические T4- и SPO1-подобные фаги, поражающие широкий круг бактерий, включая патогенные и условно патогенные. Всего идентифицировано 18 семейств вирусов, инфицирующих бактерий, водорослей, птиц, рыб, насекомых, людей. Наиболее многочисленными были *Myoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*, *Phycodnaviridae*, *Poxviridae*, составляя 97% от всех идентифицированных семейств.

Функциональная классификация, основанная на использовании базы данных SEED Subsystems, показала, что самыми большими группами были «Фаги, профаги, транспонируемые элементы и плазмиды» (27,4% от всех классифицированных прочтений для подлёдной пробы) и «Кластерные подсистемы» (13,2% от всех классифицированных прочтений для раннелетней пробы).

В ходе работы предложены пути и алгоритмы для анализа виромов, апробированы методики, как выделения ДНК для изучения виромов пресноводных водоемов, так и анализа данных с помощью различных биоинформатических программ.

Работа выполнена в рамках темы госзадания ЛИН СО РАН № 0345-2019-0003 (полевые работы), а также при финансовой поддержке проекта РФФИ № 18-34-00513 мол_а (секвенирование, анализ данных).



Василенко О.В.¹, Кочкина Г.А.¹, Иванушкина Н.Е.¹,
Малов В.О.², Логачева М.Д.³, Озерская С.М.¹

¹Отдел ВКМ ФИЦ ПНЦБИ РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина, Пущино, ovvasilenko@gmail.com;

²факультет биотехнологии МГУ им. Ломоносова;

³Лаборатория эволюционной геномики ФББ МГУ им. Ломоносова, ovvasilenko@gmail.com

Введение. Класс *Leotiomyces* — это один из крупнейших классов царства грибов, безусловно очень важный для науки и практики. У нас исторически сложился глубокий интерес к таксономическим группам этого класса, выработавшим стратегии выживания в экстремальных условиях. Ключом к пониманию путей их приобретения, а также систематической структуры является естественная и объективная модель эволюции - филогенетическое дерево. Наиболее надежными являются деревья, построенные на основе анализа большого объема нуклеотидных последовательностей, в идеале - всего генома. Мы вправе предложить филогеномную модель класса *Leotiomyces*, так как для него уже имеется в открытом доступе более сотни полногеномных сборок, около 20% которых получено с нашим участием.

Цели и методы исследования. Цель работы - построить на основе вычисленных относительных межгеномных дистанций (ОМД) дерево для класса *Leotiomyces* и выявить на нем новые таксоны, в том числе порядок *Geomycetales* ord nov., выявить уровни отсечения между таксонами различного ранга. Это первая попытка такого рода в микологии, а в бактериологии для таксонов низкого ранга критерии существуют и обновляются (Chun et al., 2018). Мы использовали имеющиеся в базе GenBank полногеномные сборки, относящиеся к данному классу; геномы секвенировали на платформах *Illumina* и *Oxford Nanopore*. ОМД вычисляли на основе т.н. показателя средней нуклеотидной идентичности (ortho-ANI, Lee et al. 2015). Дерево строили методом NJ («присоединения соседа»).

Результаты исследования. ОМД внутри класса *Leotiomyces* не превышали уровень 20%, что означает, что метод ortho-ANI корректно «работает» в этом масштабе. Предполагаемый порядок *Geomycetales* ord nov. является сестринским по отношению к другому яркому носителю экстремотолерантных видов — порядку *Thelebolales*. Данные позволяют обозначить и предложить научному сообществу характерные межгеномные дистанции для разделения видов, родов, семейств и порядков.

Закключение. Практически сразу после появления концепции индекса ANI мы стали применять его для филогеномных построений деревьев для грибов, то есть делаем это уже несколько лет. Данная работа впервые применяет этот подход в масштабах класса и вырабатывает первые рекомендации для установления таксоноспецифических дискриминирующих уровней. Мы полагаем, что дальнейшие работы с использованием более обширной статистики с привлечением геномов из других классов позволят уточнить лучше обосновать эти уровни. Необходимость использования для грибов и других эукариот в ближайшей перспективе подхода, основанного на ОМД, в 2018 году декларировали представители NCBI, США (Ciufu et al., 2018).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-04-01347 (Василенко О.В.).

ТРАНСФОРМАЦИЯ СЕЛЕНИТ-ИОНОВ БАКТЕРИЯМИ РОДА *AZOSPIRILLUM* С ОБРАЗОВАНИЕМ СЕЛЕНОВЫХ НАНОЧАСТИЦ

Тугарова А.В., Мамченкова П.В., Камнев А.А.

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, Саратов,
tugarova_anna@mail.ru

Бактерии играют важную роль в биогеохимическом цикле соединений селена. Селен включен в широкий круг метаболических процессов: ассимиляцию, анаэробное дыхание, детоксификацию и др. Бактерии способны восстанавливать оксоанионы селена: селенаты (SeO_4^{2-}) и селениты (SeO_3^{2-}) до элементарного селена (Se^0) с образованием наночастиц (SeNC).

В работе изучена трансформация селенит-ионов различными видами азоспирилл с образованием SeNC . Рассмотрены возможные механизмы восстановления, предложена схема образования SeNC . С помощью оригинальной методики синтезированы SeNC , локализованные экстракционно. Они охарактеризованы с использованием различных методов: динамического рассеяния света, колебательной спектроскопии и просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ).

Система денитрификации азоспирилл участвует в восстановлении SeO_3^{2-} . Роль редокс-системы глутатиона в данном процессе не существенна. В выносе зародышей SeNC из клетки участвует H^+ -зависимый транспорт. Размеры SeNC зависели от начальной концентрации селенита: наиболее однородные и максимальные по размеру (от 80 до 250 нм в зависимости от штамма) были получены при использовании 5–10 мМ SeO_3^{2-} . Они имели дзета-потенциал в диапазоне от $-18,5$ до $-23,7$ мВ. Se^0 в составе наночастиц находится в аморфной модификации. SeNC имеют в своем составе белки, полисахариды и липиды. Наличие биосоставляющей также подтверждалось ПЭМ: на поверхности SeNC присутствовал тонкий, менее электронно плотный, слой. SDS-PAGE электрофорез белков, связанных с SeNC , показал наличие доминантной полосы ~ 95-110 кДа. Биомакромолекулы могут участвовать в сборке SeNC , обеспечивая их стабильность и уникальные свойства, отличные от свойств химически синтезированных наночастиц.

Изучение механизмов восстановления селенит-ионов различными бактериями, включая азоспирилл, дает ключ к пониманию биогеохимических циклов соединений селена и к управлению восстановлением селенит-ионов для использования таких бактерий в качестве клеточных фабрик для получения SeNC . Данный феномен представляет интерес для различных областей биотехнологии: биоремедиации, производства добавок, «зеленого синтеза» SeNC .

КОНКУРЕНЦИЯ МЕЖДУ N- И C-ТЕРМИНАЛЬНЫМИ ДОМЕНАМИ РЕГУЛИРУЕТ ПРОЦЕСС ОЛИГОМЕРИЗАЦИИ И ШАПЕРОННОЙ АКТИВНОСТИ МАЛОГО БЕЛКА ТЕПЛОВОГО ШОКА IbpA ИЗ *ACHOLEPLASMA LAYDLAWII*

Чернова Л.С.^{1,2}, Каюмов А.Р.^{1,2}, Вишняков И.Е.¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

² Казанский (Приволжский) Федеральный Университет, Казань
LSCh-888@live.com

Малые белки теплового шока (мБТШ) представляют собой повсеместно распространенные молекулярные шапероны, предотвращающие необратимую денатурацию белков. Показано, что *Escherichia coli* и другие бактерии содержат два мБТШ IbpA и IbpB, которые работают в тесном взаимодействии, в то время как у единственной свободноживущей микоплазмы *Acholeplasma laylawii* найден только один ген, кодирующий белок α -мБТШ AllbpA. Целью данной работы являлось исследовать роли N- и C-концов AllbpA в процессе олигомеризации и шаперонной активности белка.



Все белки очищали с помощью аффинной хроматографии на *Ni-NTA*-сефарозе. Олигомери-зацию *AllbpA* анализировали при различных температурах с помощью микроскопии высоко-го разрешения и химической сшивки глутаровым альдегидом. Межбелковые взаимодействия оценивали методом *Pull Down* анализа. Шаперонную активность оценивали способностью *AllbpA* подавлять агрегацию инсулина, вызванную тепловым шоком. Агрегацию белка оцени-вали с помощью флуоресценции красителя SYPRO Orange.

Нами показано, что независимо от температуры *AllbpA* образует гетерогенную смесь 24-мер-ных глобул, фибрилл и огромных белковых агрегатов. Удаление 12 или 25 N-концевых ами-нокислот приводит к образованию фибрилл и повышает способность белка предотвращать температурную агрегацию инсулина, указывая на то, что N-конец не участвует в шаперонной ак-тивности, в то время как отвечает за образование глобул. Поскольку в *E.coli lbpB* блокирует об-разование фибрилл *lbpA*, мы предполагаем, что N-конец *AllbpA* ведет себя как аутоингибитор и регулятор активности C-конца, что дополняет недостаток *lbpB*. В свою очередь, удаление C-кон-ца или замена C-концевого мотива LEL на SEP нарушает температурную стабильность *AllbpA* и полностью устраняет шаперонную функцию, в то время как белок все еще остается преимуще-ственно в глобулярном состоянии и способен связываться с инсулином. Это говорит о том, что C-концевой мотив LEL необходим для шаперонной активности *AllbpA* и образования фибрилл.

Взятые вместе данные демонстрируют нетривиальные свойства *AllbpA*, где конкуренция между N- и C-концами за взаимодействие с α -кристаллиновым доменом регулирует переход к фибриллярной или глобулярной форме, представляющей молекулярный механизм регуляции активности *AllbpA*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Проект №17-74-20065).

СЕКЦИЯ: МИКРОБНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

КОНВЕРСИЯ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ СУБСТРАТОВ В МОТОРНОЕ ТОПЛИВО С ПОМОЩЬЮ МИКРОБНЫХ, МЕМБРАННЫХ И КАТАЛИТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ

Нетрусов А.¹, Тепляков В.², Цодиков М.²

¹Каф. микробиологии МГУ им. Ломоносова,

²Институт нефтехимического синтеза РАН, Москва, anetrusov@mail.ru

Лигноцеллюлоза является самым распространенным возобновляемым полисахаридом на Земле и поэтому – идеальный источник для получения энергии. Целями работы являлись со-здание технологий переработки лигноцеллюлозных субстратов в спирты, их мембранное кон-центрирование с последующей каталитической конверсией в компоненты топлив.

Объектами исследований являлись различные целлюлазы, клостридии, осуществляющие ацетано-бутиловое брожение (АБЭ-процесс) и дрожжи, образующие этанол. Проводили ис-следования по оптимизации процессов предобработки лигноцеллюлозы, ее гидролиза цел-люлазами, АБЭ и спиртовых брожений, концентрации образованных спиртов в мембранных модулях и каталитических превращений спиртов в алканы.

В результате создан процесс, позволивший получать возобновляемые источники энергии в виде спиртов (этанола и бутанола), ацетона, до 2,3 об.% в культуральной жидкости АБЭ про-цесса на целлюлозных гидролизатах и до 10 об.% в спиртовом брожении на тех же субстра-



тах. Мембранное концентрирование продуктов АБЭ брожения позволяет получать на выходе до 99% образованных спиртов и ацетона с последующей 60% конверсией АБЭ продуктов в алифатические и ароматические углеводороды (C8-C10), пригодные для использования как авиационное топливо по формуле: $2 \text{ RОН} + \text{H}_2 \rightarrow \text{R-R} + 2 \text{ H}_2\text{O}$ на цеолитном катализаторе. Катализатор можно эффективно регенерировать от образующихся шлаков после 100 час непрерывной работы с помощью перегретого пара с восстановлением 100% активности.

Таким образом, показана возможность и создана технология для производства компонентов моторных топлив из возобновляемого растительного сырья, снижающая зависимость от ископаемых источников энергии.

Проект поддержан грантом РФФИ № 16-14-00098.

ФЕРМЕНТЫ КСИЛОТРОФНОГО ГРИБА *LENTINUS TIGRINUS* ВКМ F-3616D КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ В ДЕПОЛИМЕРИЗАЦИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, ИСПОЛЪЗУЕМОГО В ПОЛУЧЕНИИ БИОЭТАНОЛА

Атыкян Н.А., Ревин В.В., Кадималиев Д.А.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарёва, Саранск, kistig2@yandex.ru,

Сложность производства биоэтанола из растительного сырья связана с экранированностью целлюлозы лигнином, удаляемым как правило физико-химическими методами с образованием токсичных побочных продуктов. Новые тенденции связаны с использованием лигно- и целлюлолитических ферментов ксилотрофных грибов для предварительной обработки лигноцеллюлозной биомассы.

Целью нашего исследования являлось выделение ферментов гриба белой гнили *Lentinus tigrinus* ВКМ F-3616D, изучение их свойств и возможности использования для деполимеризации лигноцеллюлоз и последующего сбраживания гидролизата в биоэтанол.

Выявлено, что данный гриб синтезирует три типа лигниназ, один перекись-генерирующий фермент и, по меньшей мере, два типа целлюлаз.

Среди лигниназ гриба выделена методами анионообменной хроматографии пероксидаза, сходная с пероксидазами растительного типа с оптимумом pH 7 и температуры 25°C. Гваякол является наиболее специфическим субстратом для этой пероксидазы.

Также были выделены анионообменной хроматографией две внеклеточные оксидазы, катализирующие окисление пирокатехина и ABTS, имеющие одинаковые значения pH (7,0) и температурного (60-65°C) оптимумов. Спектры поглощения оксидаз были аналогичны спектру желтой оксидазы из *Pleurotus ostreatus*.

Очищены методами гель-хроматографии и ионообменной хроматографии целлюлазы гриба - целлобиогидролазы и эндоглюканазы, с высоким температурным оптимумом (60-65 °C и 65-70 °C). Для целлобиогидролазы с молекулярной массой 43 и 52 кДа оптимальный pH составлял 5,0, а для эндоглюканаз массой 25, 48 и 50 кДа – 3,5-3,8.

Выделенные ферменты использовались для предварительной обработки ультрадисперсных опилок, подвергнутых дополнительно ультразвуковой обработке. Показано, что комплексная предобработка повышает эффективность гидролиза лигноцеллюлоз и последующего их сбраживания дрожжами.

Работа выполнена при поддержке гранта Минобрнауки РФ 15.7802.2017/6.7.



Коллеров В.В.¹, Шутов А.А.^{1,2}, Донова М.В.^{1,2}

¹ Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пущино, svkollerov@rambler.ru

² ООО «Фарминс», Пущино

Среди большого разнообразия микроорганизмов, способных катализировать структурную модификацию стероидов, мицелиальные грибы представляют особый интерес. В отличие от бактерий, полностью утилизирующих стероиды в качестве источников углерода и энергии, микромицеты, как правило, осуществляют детоксификацию стероидов, как фунгитоксичных соединений, катализируя реакции, трудноосуществимые с использованием традиционного химического синтеза. Однако, биокаталитический потенциал большей части низших эукариот остаётся практически не изученным в отношении стероидных субстратов, в частности, 3-оксо-стероидов – ключевых предшественников в синтезе ценных фармацевтических соединений.

В ходе предварительного широкого скрининга микромицетов в отношении 3-оксо-стероидов нами были отобраны наиболее перспективные грибные штаммы: *Absidia coerulea*, *Bipolaris australiensis*, *Gibberella zeae*, *Beauveria bassiana* и *Cunninghamella echinulata*. Целью настоящей работы являлось изучение особенностей биоконверсии андрост-4-ен-3,17-диона (АД) и андроста-1,4-диен-3,17-диона (АДД) выявленными грибными культурами.

Биоконверсию стероидных субстратов (1 г/л) осуществляли мицелием второй генерации в жидкой питательной среде в течение 24-144 ч с ежедневным мониторингом стероидных метаболитов методами ТСХ и ВЭЖХ. Все детектируемые продукты трансформации были выделены в качестве индивидуальных соединений с применением колоночной хроматографии. Структуры стероидов установлены на основании результатов масс-спектрометрического, ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопического анализов.

Показана способность исследуемых культур катализировать реакции 7 α -, 7 β -, 11 α - и 14 α -гидроксилирования, 1(2)- и 17 β -восстановления, а также 1(2)-дегидрирования андростанов. Максимальное проявление 7 α -гидроксилазной активности в отношении АД было отмечено для культуры *Absidia coerulea*, в то время как штаммы *Gibberella zeae* и *Bipolaris australiensis* обладали способностью катализировать регио- и стереоспецифическое 7 β -гидроксилирование АД и АДД с накоплением до 40% 7 β -гидроксипроизводных – ключевых интермедиатов в синтезе ценных желчных кислот из неживотного сырья. Ранее о способности микромицетов катализировать реакцию 7 β -гидроксилирования АДД не сообщалось. Мицелий *Beauveria bassiana* эффективно гидроксилировал АД в положении 11 α с образованием до 60% 11 α -ОН-АД – основного предшественника в синтезе ряда кортикостероидов.

Выявленные новые активные биокатализаторы структурной модификации 3-оксо-стероидов могут быть использованы при получении ценных фармацевтических субстанций.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках реализации Федеральной целевой программы (уникальный идентификатор проекта RFMEFI58818X0008).



ВОССТАНОВЛЕНИЕ Cr(6+) СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИМИ И ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ: ПЕРСПЕКТИВЫ БИОРЕМЕДИАЦИИ ЗАГРЯЗНЕННЫХ СТОКОВ

Хижняк Т.В.², Брюханов А.Л.¹

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
биологический факультет, Москва

²ФГУ Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии»
РАН, Институт микробиологии имени С.Н. Виноградского
khijniaktv@yandex.ru; brjuchanov@mail.ru

В настоящее время трансформацию тяжелых металлов и металлоидов при участии прокариот активно изучают не только для углубления представлений о функционировании и регуляции клеточных металл-редуктазных систем, но и для разработок новых экологически безопасных биотехнологий очистки природных объектов и промышленных отходов.

Целью работы является изучение роли новых штаммов и видов алкалофильных и сульфатредуцирующих бактерий в процессах восстановления хроматов в нейтральных и щелочных условиях среды.

Авторами были выделены и изучены новые галоалкалофильные штаммы бактерий рода *Halomonas* и штаммы ряда сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) рода *Desulfovibrio*, устойчивых к тяжелым металлам.

При исследовании восстановления хромата калия и аммония при нейтральном pH в процессе роста штаммов рода *Desulfovibrio* показано, что они способны расти вплоть до концентраций 500 мМ Cr(VI) . При этом хромат аммония оказался более токсичен, так как наблюдалось снижение количества биомассы. В случае восстановления хроматов в неростовых условиях показано, что концентрация шестивалентного хрома снижается практически до нуля в течение 30-60 мин. Также была исследована динамика восстановления хромата клетками СРБ при многократном его добавлении и в возрастающей концентрации – для исследуемых штаммов показано, что бактерии многократно восстанавливали хромат вплоть до исчерпания донора (5-6 добавлений, до 300-1000 мкМ K_2CrO_4). В ходе роста и восстановления шестивалентного хрома в щелочных соленых условиях (pH 10, соленость 2,5 М) показано, что хромат аммония был восстановлен бактериями рода *Halomonas* в течение 7-10 сут. Аналогично экспериментам с СРБ хромат также добавляли порционно в зависимости от скорости его восстановления – галомонады были способны восстанавливать хромат вплоть до концентраций 500-650 мМ Cr(VI) .

Как в случае СРБ, так и в случае галомонад, в процессе восстановления Cr(VI) наблюдали образование нерастворимого осадка, содержащего восстановленный хром. Элементный состав клеток и осадка в процессе хроматредукции был исследован методом рентгеновского микроанализа.

Полученные результаты дают основание полагать, что бактерии рода *Desulfovibrio* и *Halomonas* являются перспективными для разработки новых эффективных систем биоремедиации сточных вод от токсичного шестивалентного хрома.

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ №18-04-00622.



БАКТЕРИАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У САДКОВОЙ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ, *ONCORHYNCHUS MYKISS* (WALBAUM) КАК ИНДИКАТОРЫ РАННЕГО ЭТАПА РАЗВИТИЯ ИНФЕКЦИИ

Паршуков А.Н., Фокина Н.Н., Суховская И.В., Канцерова Н.П.

Институт биологии - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» (ИБ КарНЦ РАН), Петрозаводск, aleksey.nik.parshukov@gmail.com

Введение. Садковое форелеводство в республике Карелия относится к приоритетному направлению рыбохозяйственной деятельности. В то же время интенсивное развитие аквакультуры отражается на инфекционном благополучии форели. В данной ситуации важным остается ранняя диагностика признаков начала болезни и своевременные лечебно-профилактические действия. Представления о видовом составе и доминантных группах бактерий, а также ряд биохимических параметров, могут служить индикатором благополучия хозяина.

Цель: определить состав микрофлоры пищеварительного тракта и содержание насыщенных жирных кислот в мышцах и печени как потенциальных маркеров развивающегося инфекционного процесса у рыб.

Материалы и методы. Исследования микробиоты ЖКТ и липидного состава внутренних органов провели в летне-осенний период 2017-2018 гг. на примере 74 экз. радужной форели *Oncorhynchus mykiss* с разным инфекционным статусом на одном из садковых хозяйств Карелии. Для анализа микробного сообщества использована выборка, представленная образцами слизистой и содержимого кишечника и желудков, из которых была выделена тотальная ДНК. Секвенирование гипервариабельных участков V3, V4 гена 16S рРНК проведено на платформе «Illumina» MiSeq. Экстракция липидов производилась согласно общепринятым методам (Folch et al., 1957).

Результаты и обсуждение. Исходя из полученных микробиологических и биохимических данных, рыбы были инфицированы в начале эксперимента (июнь 2017), а внешние признаки заболевания проявились позднее (август 2017). Скрытое течение инфекции определялось в ранние сроки благодаря использованию специфичных маркеров (присутствие жирных кислот бактериального происхождения), а также на основе изменений в составе кишечной микрофлоры (исчезновению лактобацилл, появлению и дальнейшему превалированию бактерий семейства *Mycoplasmataceae*, достоверному различию микробиома здоровых рыб от больных).

Выводы. Данные о составе кишечного микробиома и содержанию жирных кислот могут быть использованы для оценки начального бактериального заражения у рыб и определения возможных сценариев течения болезни.

Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств РНФ (проект № 17-74-20098).

Список литературы

Folch, J., Lees, M., and Stanley, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.



НОВЫЕ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО ЛЕВАНА *AZOTOBACTER VINELANDII* ДЛЯ ОЧИСТКИ ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОКОВ ОТ РАДИОНУКЛИДОВ И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Шутова В.В., Ревин В.В., Сафонов А.В., Панкратова Е.А., Тараканова А.Е.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарёва, vshutova@yandex.ru

Решение проблемы извлечения тяжелых металлов и радионуклидов из сточных вод различных производств связано с использованием эффективных адсорбентов на основе бактериальных экзополисахаридов (левана).

Цель - создание биоконпозитов-полисорбентов на основе нативного и модифицированного левана. Методы – микробиологические, ВЭЖХ, рентгенофлуоресцентный анализ, метод жидкостно-сцинтилляционного счета.

При культивировании *A. vinelandii* Д-08 на мелассной среде получен леван и изучены его свойства. Определены условия адсорбции ионов металлов и радионуклидов гидрогелем левана с поливиниловым спиртом.

Биоконпозиты на основе левана перспективно использовать в разработке адсорбентов для очистки сточных вод от металлов и радионуклидов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 18-29-05054/18).

АНАЭРОБНЫЕ *DESULFOSPOROSINUS* АКТИВНЫ В ВЫСОКО ОКИСЛЕННЫХ ШАХТНЫХ ДРЕНАЖАХ

Гавенко А.А.¹, Бухтиярова П.А.¹, Брассер Г.², Глухова Л.Б.¹, Кадников В.В.³,
Равин Н.В.³, Пименов Н.В.⁴, Карначук О.В.¹

¹Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет,
Томск, annaagavenko@gmail.com

²Лаборатория химии бактерий, Национальный центр научных исследований,
Марсель, Франция

³Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

⁴Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Кислые шахтные дренажи (КШД) образуются в отходах добычи металлов как следствие биологического и химического окисления остаточных сульфидов железа, высвобождающего протоны и образующего сильный окислитель – трехвалентное железо. В результате образуются агрессивные сточные воды, представляющие угрозу для окружающей среды. Диссимиляционная сульфатредукция, протекающая с поглощением протонов и связыванием металлов в нерастворимые сульфиды, широко используется для биоремедиации КШД, а также способствует естественной очистке отходов. Микробная сульфатредукция – строго анаэробный процесс, однако сульфатредуцирующие бактерии (СРБ) имеют множественные системы защиты от окислительного стресса и присутствуют в окисленных биотопах. Целью нашего исследования было продемонстрировать протекание процесса сульфатредукции в высоко-окисленных КШД, выделить культуру возможного агента этого процесса, изучить его устойчивость к окислительному стрессу и способность восстанавливать сульфаты в окисленных условиях.

Объектом исследования послужили вода и осадки заброшенной шахты Джидинского полиметаллического месторождения в Закаменске (республика Бурятия). рН воды составлял 3.31, Eh осадка + 496, свидетельствовал о высоко-окисленных условиях. Измеренная с радиоактивным сульфатом скорость сульфатредукции в пробе осадков, обозначенной Вu-10, достигала 0.392нМ/мл/сутки. Из этой же пробы были получены сульфидогенные накопительные куль-



туры и выделена чистая культура СРБ, обозначенная ОК10. Филогентический анализ гена 16S рРНК показал, что сульфидоген представлял новый вид рода *Desulfosporosinus*. Ближайшим родственником *Desulfosporosinus* sp. ОК10 является *Desulfosporosinus nitroreducens* со сходством последовательностей 97.62%. Молекулярный анализ суммарной ДНК, выделенной из воды шахты, свидетельствует о том, что единственная операционная таксономическая единица (ОТЕ), для которой известна способность к сульфатредукции, относилась к роду *Desulfosporosinus* и составляла минорный компонент сообщества - 0.67% от всех классифицированных последовательностей. Штамм ОК10 был менее устойчив к кислороду по сравнению с модельным СРБ, *Desulfovibrio vulgaris Hildenborough*, но активно потреблял O₂ в присутствии органических субстратов. Обнаружены новые механизмы, позволяющие штамму ОК10 восстанавливать сульфат в окисленных условиях. Исследование поддержано грантом РФФИ 18-14-00130.

ПОЛУЧЕНИЕ НОВЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ МЕТОДОМ ГЕНОМНОГО ПОИСКА.

Лисов А.В.^{1,2}, Белова О.В.¹, Лисова З.А.¹, Самойленко В.А.¹, Андреева-Ковалевская Ж.И.¹,
Захарова М.В.¹, Шадрин А.М.¹, Леонтьевский А.А.^{1,2}

¹ФГБУН ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований российской академии наук». Структурное подразделение «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН», Пущино, ssl208@rambler.ru

²ФГБУО Пущинский государственный естественно-научный институт, Пущино

Ферменты активно используются в различных отраслях хозяйства - пищевой и текстильной промышленности, сельском хозяйстве, медицине. Поэтому получение новых ферментных препаратов для применения в различных отраслях производства является актуальной задачей. В настоящее время массово секвенируются геномы различных микроорганизмов, что облегчает поиск генов, кодирующих практически важные ферменты. В частности, в животноводстве активно используются ферменты-глюкогидролазы, способствующих повышению продуктивности животных. Целью работы являлось разработка новых ферментных препаратов, используемых для улучшения питательных свойств кормов животных.

Для достижения цели были использованы штаммы бактерий, депонированные во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ), для которых известны полные последовательности геномов. В геномах проведен поиск генов, кодирующих глюкогидролазы, проведена амплификация интересующих генов методом ПЦР, получены рекомбинантные продуценты ферментов на основе *Pichia pastoris*, проведена наработка ферментных препаратов, изучены их свойства и отобраны лучшие ферменты, разработан технологический регламент получения ферментных препаратов.

Из ВКМ были получены 18 штаммов бактерий, для которых известны полные геномные последовательности. В геномах бактерий были идентифицированы 277 генов, потенциально кодирующих глюкогидролазы. Были получены клоны генов - всего 103 клон. На основе *P. pastoris* получено 55 рекомбинантных продуцентов. Ферменты были экспрессированы и очищены. Изучены свойства ферментов – субстратная специфичность, pH оптимум, термостабильность, осаживающая способность в отношении злаков. На основании изученных свойств были отобраны ферменты с оптимальными свойствами. Была проведена оптимизация условий культивирования рекомбинантных продуцентов в ферментерах. Оптимизация условий культивирования (состав среды, режим внесения индуктора) позволила получить ферменты в количестве до 15 г/л культуры. Отработана технология получения ферментных препаратов, которая включала отделение биомассы, концентрирование ферментного препарата и сушку ферментного препарата в псевдосжиженном слое.

В результате получен новый ферментный препарат с активностью ксиланазы 12000 Ед/гр, бета-глюканазы – 8000 Ед/гр, целлюлазы – 6000 Ед/гр. Ферментный препарат обладал максимумом активности при pH 5-7, сохранял более 50% активности в течение 3 ч при 80°C.



МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО И *IN SITU* БИОРЕМЕДИАЦИЯ ПОДЗЕМНЫХ ВОД ОТ НИТРАТОВ В ЗОНЕ ПОВЕРХНОСТНОГО ХРАНИЛИЩА ЖИДКИХ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

Бабич Т.Л.¹, Сафонов А.В.², Соколова Д.Ш.¹, Турова Т.П.¹, Груздев Д.С.¹,
Меркель А.Ю.¹, Полтараус А.Б.³, Захарова Е.В.², Назина Т.Н.¹

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
inmi@inmi.ru

²Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва,
office@phyche.ac.ru

³Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва,
isinfo@eimb.ru, microb101@yandex.ru

Хранилища жидких радиоактивных отходов (РАО), даже после окончания их эксплуатации, являются источником загрязнения водоносных горизонтов долгоживущими радиоактивными элементами и другими макрокомпонентами РАО. Целью работы было изучение физико-химических и радиохимических условий и состава микробного сообщества подземных вод в районе законсервированного поверхностного хранилища радиоактивных отходов и выяснение возможности *in situ* биоремедиации подземных вод от нитрат-ионов. Подземные воды вблизи хранилища жидких РАО на глубине 10 м характеризовались повышенным содержанием нитрат-, сульфат- и гидрокарбонат-ионов и стронция. Методом высокопроизводительного секвенирования V3-V4 региона гена 16S рРНК показано присутствие в составе подземного сообщества бактерий филумов *Proteobacteria* (родов *Alicyclophilus*, *Thermomonas*, *Herminiimonas*, *Pseudomonas*, *Brevundimonas* и некультивируемых *Oxalobacteraceae*), *Firmicutes* (родов *Bacillus* и *Paenibacillus*) и *Actinobacteria* (*Candidatus Planktophilia*). В подземных водах обитали аэробные органотрофные и нитрифицирующие бактерии, а также анаэробные бродильные, железоредущие и денитрифицирующие бактерии. Из подземных вод выделено в чистую культуру 33 штамма бактерий, относящихся к 15 родам. Представители родов *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Cupriavidus*, *Shewanella*, *Ensifer* и *Thermomonas* восстанавливали нитраты до нитритов и/или молекулярного азота. У бактерий родов *Pseudomonas*, *Rhizobium* и *Ensifer* с помощью специфичных праймеров детектированы гены *nirS* или *nirK*, кодирующие нитритредуктазы. Восстановление нитратов чистыми культурами приводило к снижению Eh среды. Закачка ацетата натрия и молочной сыворотки в подземный горизонт (single-wellpush-pulltest) способствовала временной локальной очистке подземных вод от нитрат-ионов в районе законсервированного хранилища РАО и подтвердила возможность успешного использования предлагаемого метода *in situ* биоремедиации.

Молекулярные исследования выполнены при поддержке РФФ (грант №17-17-01212), денитрифицирующих бактерий исследовали при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ И ОЦЕНКА ИХ СВОЙСТВ

Ибрагимова С.А., Ревин В.В.

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н. П. Огарёва, Саранск, ibragimova-s@yandex.ru

В связи с массовым использованием химических препаратов остро стоит вопрос о переходе к биологизации сельского хозяйства. Требуется исследование в области расширения функций консорциума микроорганизмов, входящих в состав биопрепаратов. В частности, важно одно-



временное комплексное проявление фунгицидных и ростостимулирующих свойств, способности индуцировать стрессоустойчивость растений, а также улучшение плодородия почвы за счет снижения остаточного содержания пестицидов и повышения количества полезной микрофлоры.

Целью работы явилось получение препарата комплексного действия путем совместного культивирования микроорганизмов разных таксономических групп и определение их фунгицидных и ростостимулирующих свойств.

Объектами исследования явились бактерии *P. aureofaciens*, *P. putida*, *B. subtilis*, *R. erythropolis*, *A. vinelandii*. Культивирование проводили на минеральной и мелассной средах, варьируя параметрами pH, температуры, скорости перемешивания, соотношением микроорганизмов.

В результате подобраны оптимальные условия совместного культивирования бактерий, обеспечивающие максимальный прирост биомассы в течение 24 ч (9,5 - 12,6 г/л). Лучшим явился вариант начального культивирования *P. aureofaciens*, *P. putida*, *A. vinelandii* с последующим внесением через 4 ч бактерий *B. subtilis* и *R. erythropolis*. При культивировании бактерий на мелассной среде прирост биомассы выше, чем на минеральной среде, что дает возможность удешевить технологический процесс получения препарата. Исследуемые консорциумы в зависимости от состава бактерий в разной степени обладают фунгицидными (показатель ингибирования роста *Alternaria solani* 88-100 %, *Botrytis cinerea* 79-93 %) и ростостимулирующими свойствами (энергия прорастания семян пшеницы на 5 - 8 % выше контроля).

Таким образом, показана возможность совместного культивирования исследуемых бактерий разных таксономических групп с целью получения нового вида биопрепарата, обладающего комплексным действием.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 18-416-130003.

ЛИГНОЦЕЛЮЛОЛИТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС ДЕРЕВОРАЗРУШАЮЩИХ БАЗИДИОМИЦЕТОВ ПОРЯДКА POLYPORALES: ПЕРВИЧНЫЕ VS ВТОРИЧНЫЕ КСИЛОТРОФЫ

Федорова Т.В.¹, Глазунова О.А.¹, Моисеенко К.В.¹, Шахова Н.В.², Васина Д.В.¹,
Савинова О.С.¹, Псурцева Н.В.²

¹Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва, info@fbras.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, Санкт-Петербург, binadmin@binran.ru

Мицелиальные грибы обладают мощным потенциалом к разложению растительных, в том числе древесных субстратов, и тем самым являются необходимыми элементами углеродного цикла Земли, генерации гуминового составляющего почвы и формирования ее тонкой структуры. Дереворазрушающие грибы, принадлежащие к отделу Basidiomycota, уникальны по своей способности разрушать компоненты клеточных стенок ксилемы. Экология дереворазрушающих грибов напрямую связана с видом поражаемой ими древесины. В природных экосистемах базидиальные грибы белой гнили встречаются на неразрушенной, частично разрушенной и погребенной древесине, а также корнях. В зависимости от типа и состояния колонизируемого субстрата (разрушенная или неразрушенная древесина, древесина в почве) процессы роста гриба и утилизации лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз существенно различаются. Деструкция древесных субстратов является комплексным процессом, эффективность которого определяется действием ферментативных систем грибов и напрямую зависит от их качественного и количественного состава.

В работе секвенированы на платформе *Illumina* HiSeq 2500 и аннотированы геномы дереворазрушающих грибов белой гнили порядка Polyporales: *Trametes hirsuta* – представителя пер-



вичных раневых сапротрофов и активного деструктора древесины с высоким деградационным потенциалом; *Steccherinum ochraceum* – представителя вторичных сапротрофов, предпочитающих заселять хорошо разрушенную древесину.

Наши геномные данные показали, что *T.hirsuta* и *S.ochraceum* обладают широким репертуаром ферментативных механизмов для разложения лигноцеллюлозного материала. Сравнительный анализ геномов и секретомов данных базидиомицетов продемонстрировал генетические и ферментативные механизмы, регулирующие адаптацию *T.hirsuta* и *S.ochraceum* к росту на древесине разной степени деструкции. Так в геноме *S.ochraceum*, по сравнению с *T.hirsuta*, суммарно обнаружено меньшее количество генов, кодирующих белки семейства гликозил-гидролаз (GH), в то время как генов белков некоторых семейств AA из CAZy обнаружено значительно большее количество (например, таких как AA3, AA7, AA6 и AA1_1). Поскольку семейство AA7 содержит глюкоолигосахаридоксидазы, участвующие в деградации частично гидролизованного биополимера целлюлозы, а семейства AA6 и AA1_1 содержат 1,4-бензохинонредуктазы и лакказы, которые участвуют в детоксикации различных ароматических соединений, образующихся в результате деструкции лигнина – это можно рассматривать как отражение субстратных предпочтений *S.ochraceum* по отношению к уже частично разрушенной древесине. Данные биохимических тестов и анализ экзопротеомов подтвердили данные геномных исследований.

Представленные в работе данные являются базой для дальнейших исследований, направленных на понимание различных аспектов деградации лигноцеллюлозы грибами белой гнили.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *LACTOBACILLUS SP.*, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ КАНДИДАТОВ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР

Васильева А.В., Сидорова Н.А.

Петрозаводский государственный университет, kennard@inbox.ru

Пробиотики - живые микроорганизмы в форме моно- или поликультур; при употреблении в достаточных количествах оказывают положительный эффект на здоровье хозяина [1, 2]. Наиболее важными аспектами взаимодействия пробиотических штаммов *Lactobacillus sp.* с макроорганизмом являются образование антибиотикоподобных соединений, конкуренция за питательный субстрат и место адгезии, изменение микробного метаболизма (увеличение или уменьшение ферментативной активности), стимуляция иммунной системы, противораковое и антихолестеринемическое действие [3, 4]. Участвующие в симбиозах как с животными, так и с растениями, *Lactobacillus sp.* интенсивно используются при создании пробиотических продуктов.

Это достаточно хорошо изученные и депонированные в коллекциях виды *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. delbrueckii sub sp. bulgaricum*, *Lb. delbrueckii sub sp. lactis*, *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. fermentum*, *Lb. plantarum*, *L. rhamnosus*. Большинство лактобактерий выделено из естественной среды обитания, но в условиях субкультивирования и многократных производственных циклов возможна их модификация с последующей потерей биотехнологически значимых свойств. Ситуацию усугубляет возможная изменчивость под действием умеренных фагов и ряда других рекомбинационных механизмов, что делает поиск альтернативных штаммов лактобактерий чрезвычайно актуальной научной и производственной задачей, направленной на оптимизацию технологий по производству пробиотических препаратов.

Цель работы заключалась в анализе технологических свойств природных штаммов *Lactobacillus sp.*, перспективных для разработки иммобилизованных пробиотических препаратов. Выделенные культуры идентифицированы по комплексу фенотипических и генотипических признаков [3, 5, 6]. В условиях непрерывного культивирования и использования биосовместимых носителей достигнуты высокие показатели роста, накопления биомассы, биохимической активности в реакциях гомоферментативного брожения и толерантность к низким значениям



pH (3,0). В лабораторных условиях штаммы вида *Lactobacillus acidophilus* продемонстрировали соответствующие технологические признаки для их включения в качестве вспомогательных функциональных культур в потенциальные пробиотические продукты. Исследование выполнено на базе МИП «Микробиом» Петрозаводского государственного университета.

Список литературы:

1. Ганина В.И. Пробиотики. Основы биотехнологии. – М.: МГУПБ, 2001. – 169 с.
2. Walker R., Buckley M. Probiotic microbes: the scientific basis // A report from the American Academy of Microbiology. – 2006. – 22 p.
3. Бондаренко В.М., Чупринина Р.П., Воробьева М.А. Механизм действия пробиотических препаратов // БИОпрепараты. – 2003. – № 3. – С. 2-5.
4. Тарakanов Б.В. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных // Ветеринария. – 2000. – № 1. – С. 47-54.
5. Котлуков В.К. Пробиотики в клинической и амбулаторной практике педиатра. – Москва, 2014г. – 27с.
6. O'Sullivan D.J. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria // J. Ag. Food Chem. – 2001. – Vol. 49. – P.1751-1760

НОВЫЙ ТИП БИНАРНЫХ АНТИМИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ: ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИБИОТИКОВ И МИНИМИЗАЦИЯ РАЗВИТИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Николаев¹ Ю.А., Сидоренко² С.В., Манзенюк³ О.В., Тутельян⁴ А.В., Кязимов Э.И., Эль-Регистан¹ Г.И.

1 - Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН, 2 - ФГБУ «НИИ детских инфекций ФМБА», 3 - ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии ФМБА», 4 - ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, NikolaevYA@mail.ru,

Неэффективность известных лекарственных средств, обусловленная быстросрастущей генетически детерминированной устойчивостью (резистентностью) к ним микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний, постоянно возрастает, и носит глобальный характер.

Исследования по повышению эффективности применения антимикробных препаратов развиваются в нескольких направлениях: выяснения механизмов антибиотикорезистентности (АБР) и предупреждение её развития; поиска новых антибиотиков; создания комбинированных (бинарных) препаратов из уже известных соединений с целью снижения их действующих концентраций и, соответственно, токсичности. Нами предложено использовать в качестве адьювантов (усилителей) антибиотиков новый тип биологически активных соединений - химические аналоги межклеточных плотностных регуляторов микроорганизмов класса алкилрезорцинов (АР), которые в суббактерицидных концентрациях ингибируют метаболическую активность бактериальной клетки, что обуславливает видонеспецифическое антимикробное действие и препятствует адаптации к действию антибиотиков. Амфифильность и механизмы молекулярного действия АР (способность изменять структурную организацию и потому функциональную активность клеточных биополимеров (белков, НК) и надмолекулярных структур (мембран)) обуславливают: 1) полимодальность эффектов АР; 2) их сочетаемость с антибиотиками разных групп; 3) отсутствие в бактериальных клетках специфических механизмов адаптации к действию АР.

В опытах *in vitro* показана эффективность применения бинарных композиций АР и антибиотиков основных групп (28 ед.) против клинических изолятов патогенных и условно-патогенных бактерий, возбудителей госпитальных инфекций (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, 77 штаммов, включая АБР штаммы): 1) МИК антибиотиков в отношении тестерных штаммов бактерий снижалась в 4-512 раз для 80% штаммов грамотрицательных бактерий и для 60%



штаммов грамположительных бактерий; 2) ускорялась гибель клеток патогенов; 3) существенно, в 16-32 раза снижалась мутант-превентирующая концентрация, что соответствует понижению вероятности развития АБР мутантов.

На модели летального клебсиелёзного сепсиса белых мышей показано повышение эффективности лечения животных бинарными препаратами на основе гексилрезорцина (ГР) и полимиксина по сравнению с индивидуальным антибиотиком: выживаемость мышей увеличивалась с 40 до 80%, доля полностью излеченных животных возрастала с 0 до 60%.

Химические и биологические свойства АР (отсутствие специфических мишеней в клетке; широкий спектр антимикробной активности; энергонезависимость транспорта через мембраны бактериальных клеток, активность против микробных биопленок) отвечают требованиям недавно сформулированной концепции «идеального антибиотика» (Singh et al., 2017; Gajdacs, 2019).

ПРОДУЦЕНТЫ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ

Лияськина Е.В.¹, Ревин В.В.¹, Сапунова Н.Б.¹, Богатырева А.О.¹, Лияськина А.Ю.²

¹Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарёва,

²Дальневосточный федеральный университет, liyaskina@yandex.ru

Бактериальные экзополисахариды привлекают особое внимание исследователей всего мира в связи с фантастическими перспективами их использования в различных областях промышленности, техники и медицины.

Целью исследований было получение новых продуцентов бактериальных экзополисахаридов путем выделения из природных источников и селекции на основе естественной изменчивости и индуцированного мутагенеза.

Получены высокопродуктивные штаммы бактерий, образующие ксантан и бактериальную целлюлозу. Разработаны технологии их производства с использованием дешевых отходов промышленности. Выделены новые продуценты экзополисахаридов из Японского моря.

Таким образом, получение новых продуцентов бактериальных экзополисахаридов расширяет возможности их практического применения и производства.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, проект №11.10882.2018/11.12.

РЕКОНСТРУКЦИЯ ХОЛЕСТЕРИНГИДРОКСИЛАЗНОЙ/ЛИАЗНОЙ ФЕРМЕНТНОЙ СИСТЕМЫ БЫЧЬЕЙ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ В МЕТИЛОБАКТЕРИЯХ

*Карпов М.В.¹, Стрижов Н.И.¹, Замалутдинов А.В.²,
Федоров Д.Н.¹, Шутов А.А.¹, Донова М.В.¹*

¹ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН,
ФИЦ Пущинский Научный центр биологических исследований РАН, Пущино

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, mikemikekarp@mail.ru

Прегненолон – прогестагенный гормон млекопитающих, нативный прекурсор стероидных гормонов и нейростероидов. Актуальной задачей является разработка биотехнологических способов получения прегненолона. В клетках млекопитающих синтез прегненолона осуществляется путем отщепления боковой цепи холестерина, катализируемого холестерингидроксилазной/лиазной (ХГЛ) ферментной системой, включающей цитохром P450scs (CYP11A1),



адренodoxин (Adx) и адренodoxинредуктазу (AdR). При ко-экспрессии генов ХГЛ системы в бактериях *Bacillus megaterium* эукариотические P450_{scs} и AdR локализовались на поверхности гранул полигидроксibuтирата (ПГБ).

Факультативные метилотрофы *Methylobacterium extorquens* AM1 способны эффективно накапливать ПГБ, используя метанол в качестве источника углерода и энергии. Целью работы являлась реконструкция ХГЛ ферментной системы коры надпочечников быка в клетках метиловых бактерий.

кДНК-фрагмент, кодирующий AdR, Adx и P450_{scs} бычьей коры надпочечников, был клонирован в плазмидный шаттл-вектор (*E.coli-Methylobacterium*) pCM160. Вектор и полученная конструкция pCM_NS11, несущая искусственный AdR_Adx_P450_{scs} оперон под контролем конститутивного промотора *mxhF*, были перенесены в клетки *M. extorquens* AM1 из *E. coli* S17-1 методом конъюгации. Культуры рекомбинантных *M. extorquens* выращивали в минимальной среде с добавлением метанола. Наличие гранул ПГБ в клетках рекомбинантов выявлено методом флуоресцентной микроскопии. Холестерин был использован в качестве субстрата биоконверсии. ТСХ и ВЭЖХ анализ показал накопление прегненолона в культуре *M. extorquens* (pCM_NS11), что свидетельствует о каталитической активности рекомбинантной ХГЛ системы.

Гены начального этапа стероидогенеза млекопитающих впервые экспрессированы в клетках метиловых бактерий. Полученные результаты открывают перспективы дальнейших исследований и биотехнологического применения рекомбинантных штаммов *M. extorquens*.

Работа поддержана Российским Научным Фондом (проект РНФ 18-14-00361)

СОСТАВ И СВОЙСТВА БИОСУРФАКТАНТОВ, ПРОДУЦИРУЕМЫХ МИКРООРГАНИЗМАМИ-НЕФТЕДЕСТРУКТОРАМИ

Беловежец Л.А.¹, Третьякова М.С.², Маркова Б.А.², Ознобихина Л.П.¹

1 – Иркутский институт химии СО РАН, Иркутск

2 – СИФИБР СО РАН, Иркутск, lyu-sya@yandex.ru

В последние годы большой интерес вызывают экзометаболиты микроорганизмов, особенно те, которые могут практически использоваться в хозяйственной деятельности человека. К таким веществам можно отнести биосурфактанты – биогенные ПАВ, характерные для многих микроорганизмов и дающие им преимущество при росте на гидрофобных субстратах. Несмотря на далеко не полное понимание структуры и свойств микробных ПАВ, они широко используются в различных областях промышленности.

Целью работы было исследование биосурфактантов, продуцируемых выделенными нами микроорганизмами-нефтедеструкторами и их характеристика физико-химическими и биологическими методами.

Из ризосферы растений, выросших на нефтезагрязненных почвах, нами были выделены высокоэффективные микроорганизмы-нефтедеструкторы, которые относятся к родам *Rhodococcus* и *Acinetobacter*. Установлено, что все они способны синтезировать биосурфактанты, как клеточно-связанные, так и внеклеточные, что подтверждалось способностью эмульгировать гексадекан с образованием стойких эмульсий, снижать напряжение нефтяной пленки. Высокая степень адсорбции микробных клеток в неполярные растворители свидетельствовала о наличии клеточно-связанных биосурфактантов. Для определения химического состава биосурфактантов проводили качественные реакции на наличие белков, аминокислот, углеводов и липидов, которые выявили наличие углеводного и липидного компонентов. На ИК-спектре биоПАВ, продуцируемого штаммом *Rhodococcus* 108, присутствуют следующие пики: полоса при 1078 см⁻¹ соответствует колебанию связи в сложноэфирной группе, линия при 1652 см⁻¹ соответствует валентным колебаниям C=O группы, широкая полоса при 2855-2923 см⁻¹ - это колебания функциональных групп алифатических связей C-H, полоса 3452 см⁻¹ соответствует



валентным колебаниям связи NH, сопряженной с C=O группой. Проведение биотестов показало, что штамм *Rhodococcus* 108 достоверно снижал негативное действие нефти на модельные растения. Это было связано, прежде всего, с эмульгацией нефтяной пленки с поверхности корневых волосков, что подтверждалось данными микроскопии.

Таким образом, для выделенных нами ризосферных бактерий были определены биосурфактанты, показаны их фитозащитные свойства в условиях нефтезагрязнения, предположительно установлена химическая структура.

МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ НА ПОРОДАХ ВЕРХНИХ ВОДОНОСНЫХ ГОРИЗОНТОВ ВБЛИЗИ ХРАНИЛИЩА РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ

Н.М. Попова¹, А.В. Сафонов¹, Д.Ш. Соколова, Т.Л. Бабич²

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва,
alexeyasafonof@gmail.com

²Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва,
missis_96@mail.ru

Загрязнение подземных вод высокотоксичными соединениями может приводить к активации подземной микробиоты, которая, в свою очередь может изменять ряд геохимических параметров, влияющих на миграцию загрязнителей. Особую роль в данных процессах играют микробные биопленки способные существенно изменять параметры водоносного горизонта, включая сорбционные характеристики пород и окислительно-восстановительные условия.

В данной работе изучены микробные сообщества биопленок на породах водоносных горизонтов загрязненных нитрат-ионами и радионуклидами (уран, цезий, стронций и др.) в ближней зоне законсервированного хранилища радиоактивных отходов Б-2 ОАО «СХК», Северск, Томская область. Отобранные пробы песчано-суглинистых пород находились в зоне загрязнения пластовых вод нитратами и радионуклидами вследствие протекания стенок хранилища на протяжении более чем 50 лет. Содержание нитрат-ионов в ряде точек отбора достигало 4-5 г/л.

В основе работы лежал длительный эксперимент по изучению динамики развития биопленок на песчаных породах, после глюкозной активации микрокосма в герметично закупоренных флаконах. Было установлено, что максимальная активность бактерий приходилась на 20 сутки; при этом доминирующими видами в составе биопленок были бета-протеобактерии семейств *Comamonadaceae* и *Rhodocyclaceae* известные способностью восстанавливать нитраты, уран и другие металлы в высших степенях окисления. Во время роста микробного сообщества установлено быстрое потребление кислорода в системе и переход на нитратное дыхание. Из биопленок были выделены чистые культуры и идентифицированы по анализу генов 16S рПНК. Всего получено 12 чистых культур, среди которых были определены следующие виды: *Bacillus proteolyticus* (5 штаммов), *Paenibacillus glucanolyticus* (4 штамма), *Microbacterium flavescens* (3 штамма).

Оценена эволюция моносахаридного состава биопленки в процессе ее роста и деградации. В результате появления биопленок на поверхности вмещающих пород установлено увеличение их сорбционной емкости для урана и стронция, в то время как для цезия, америция и плутония сорбционная емкость уменьшилась. ИК анализ поверхности пород с биопленками позволил выявить наличие гидроксильных и карбоксильных функциональных групп, ответственных за иммобилизацию уранил-ионов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект №17-17-01212.



ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ВИРУСОВ БАКТЕРИЙ

Шадрин А.М.^{1,2}, Пилигримова Э.Г.¹, Байчер С.Д.^{1,3}, Кулябин В.А.^{1,3}, Казанцева О.А.¹

¹ФИЦ Пущинский Научный Центр Биологических Исследований РАН

²Пущинский Государственный Естественно-научный Институт

³Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова andrey.shadrin@ibpm.ru

По данным на 2014 год от инфекций, вызванных устойчивыми к антибиотикам штаммами бактерий в США погибло около 23 тыс., а в Европе - около 25 тыс. человек. Использование специфических вирусов бактерий – бактериофагов является неотъемлемой частью стратегии разработки новых противобактериальных агентов в медицине, сельском хозяйстве и пищевой промышленности. В пищевой индустрии, в странах Европейского Союза и США, бактериофаги применяются для консервирования пищевых продуктов. Успешным примером здесь может послужить компания «Интралитикс». Некоторые бактериофаги или их ферменты применяются в медицинских и косметических препаратах (компании «Мирра», «Микромир»). Россия – уникальна страна, где уже более 70 лет ведется масштабное промышленное производство препаратов бактериофагов терапевтического назначения. Препараты бактериофагов против наиболее распространенных патогенов человека производится филиалами «НПО Микроген» в количестве более 1 млн. упаковок в год. Также распространение получают препараты, реализуемые в виде БАД, компании «Микромир». При этом противобактериальным препаратам на основе бактериофагов, ориентированных на пищевую промышленность и сельское хозяйство в России (рынок FoodNet) уделено недостаточно внимания. Таким образом, очевидно, что применение бактериофагов как в России, так и в других странах активно развивается и находит новые области применения. Однако, применяемые в составе препаратов бактериофаги, в большинстве случаев, недостаточно детально исследованы с помощью современных методов молекулярной биологии. Механизмы реализации и контроля генетической информации большинства таких бактериофагов неясны.

Бактериофаги, на конечной стадии программы своего развития используют специальные белки для разрушения бактериальной клетки – эндолизины. Эти ферменты считаются одними из перспективных агентов для борьбы с бактериальными штаммами, обладающими множественной устойчивостью к антибиотикам. Так, в настоящее время на второй стадии клинических испытаний уже находятся два препарата на основе эндолизинных бактериофагов, предназначенных для борьбы с бактериемией, вызванной метициллин-устойчивым золотистым стафилококком (Contrafect, США; Intron, Ю.Корея). В ходе наших исследований были определены несколько последовательностей геномов бактериофагов, был клонирован ряд генов эндолизинных, были изучены их бактериолитические свойства и бактериолитические свойства их отдельных доменов (спектр действия, термостабильность, рН – оптимум).

Исследование проводится при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-04-00300.



КРУГЛЫЙ СТОЛ: ПОЧВЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

НОВЫЕ ПРОЦЕССЫ МИКРОБНОЙ ТРАНСФОРМАЦИИ АЗОТА В ПОЧВАХ КАК ИСТОЧНИК ПАРНИКОВЫХ ГАЗОВ

Степанов А.Л., Сошникова Е.А., Манучарова Н.А., Кожевин П.А.

ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет почвоведения, Москва, stepanov_aleksey@mail.ru

Введение. Во многих типах почв нитрифицирующие археи численно преобладают над бактериями, но отсутствуют данные об их участии в процессах образования и эмиссии закиси азота (N_2O). Цель работы — изучение нитрифицирующих микробных сообществ дерново-подзолистой и серой лесной почв с оценкой их вероятного вклада в образование N_2O .

Материалы и методы. Выделение ДНК проводили с помощью Ultra Clean Soil DNA Isolation Kit («MoBio», Канада). Очистку выделенного препарата ДНК проводили с помощью коммерческого набора Wizard Genomic DNA Purification Kit в соответствии с протоколом производителя («Promega», США). Амплификацию проводили на приборе MCycler («BioRad», США). Для определения интенсивности выделения закиси азота образцы почвы массой 5 г помещали в пенициллиновые флаконы, увлажняли водным раствором $(NH_4)_2SO_4$ (из расчета 0,3 мг N/г почвы), закрывали резиновыми пробками и вводили ацетилен, достигая парциального давления 10 Pa, что достаточно для ингибирования аэробного окисления аммония протеобактериями (Prosser, Nicol; 2009). В этой концентрации C_2H_2 не оказывает влияния на активность таумархеот, так как окисление аммония у них осуществляется с участием иной ферментной системы (Kozłowski et al.; 2016). Активность денитрификации оценивали традиционным методом — по эмиссии N_2O в присутствии ацетилена (10 кПа) (Webster, Hopkins; 1996); вклад таумархеот в поток закиси азота из почв по отношению к контролю определяли по разности между вариантами с введением ацетилена (10 Pa и 10 кПа). Газовые пробы отбирали с интервалом, равным 20 ч. Скорость накопления закиси азота в газовой фазе над образцами почв оценивали на газовом хроматографе.

Результаты и обсуждение. Оценка вклада таумархеот в газообразные потери азота в форме N_2O в дерново-подзолистой почве показала, что закись азота обнаруживается только в микроскопах с аммонием и ацетиленом (10 Pa), т.е. детектируется только архейная нитрификация. В образцах с аммонием без ацетилена (ожидалось проявление активности аммонийоокисляющих бактерий) образование закиси азота за период эксперимента не обнаружено. В контрольной почве (без добавления аммония) в присутствии ацетилена (10 Pa) закись азота также не выделялась: в этих условиях автотрофная нитрификация ингибируется, а денитрификаторы не развиваются за непродолжительный промежуток времени во время эксперимента из-за отсутствия достаточного количества нитратов.

Заключение. Результаты амплификации фрагментов гена *amoA* архей и бактерий согласуются с данными других исследователей о доминировании архейных генов над бактериальными в почвах ненарушенных экосистем по сравнению с агроценозами с относительно высокими показателями обилия и активности аммонийоокисляющих бактерий. По разности между активностью денитрификации в серой лесной почве и выделением закиси азота после внесения аммония и ингибирования аммонийоокисляющих бактерий ацетиленом (10 Pa) была сделана оценка вклада аммоний окисляющих архей (АОА) в эмиссию N_2O , что составило 20–25% от общего потока закиси азота из исследованных почв.



АГРОГЕННАЯ ЭВТРОФИКАЦИЯ ПОЧВЫ КАК ПРИЧИНА ПЕРЕСТРОЙКИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА РИЗОСФЕРЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Семенов М.В.¹, Никитин Д.А.¹

¹Почвенный институт им. В.В.Докучаева, Москва, semenov_mv@esoil.ru

Введение. Ризосфера является «горячей точкой» микробной активности в почве и считается одним из сложнейших локусов с точки зрения разнообразия и межвидовых связей. Таксономическое и функциональное разнообразие микробных сообществ ризосферы определяется множеством биотических и абиотических факторов. Хотя ключевая роль экссудатов растений в формировании структуры ризосферных микробных сообществ хорошо известна для естественных экосистем, в агроценозах эвтрофикация почвы при внесении удобрений также становится значимым фактором, определяющим микробиом как внекорневой почвы, так и ризосферы растений. По-прежнему остается не ясным, насколько сильно влияет каждый из этих двух факторов, если сравнивать их совместное воздействие на микробные сообщества ризосферы.

Цели и методы исследования. В данном исследовании мы оценивали влияние факторов, связанных с растениями (тип и стадия развития) и удобрениями (минеральные или органические), на численность, биомассу и таксономическую структуру микробных сообществ ризосферы и внекорневой почвы. Отбирали образцы внекорневой почвы и ризосферы кукурузы, картофеля и горчицы белой под двумя типами удобрительных систем (минеральная – N180P150K150; органическая – 50 т/га навоза крупного рогатого скота) в рамках длительного микрополевого эксперимента. Численность копий генов и транскриптов архей, бактерий и грибов оценивалась методом RT-PCR. Структура тотальных (ДНК) и активных (РНК) сообществ прокариот и грибов определялась с помощью высокопроизводительного секвенирования ампликонов 16S рРНК и ITS2 на платформе *Illumina MiSeq*.

Результаты исследования. Длительное применение органических удобрений приводило к значительному повышению биомассы, численности и активности микроорганизмов, а также росту разнообразия и общего количества таксонов вследствие активирования минорных групп в составе сообщества и привнесения дополнительных видов микроорганизмов. Минеральные удобрения резко сокращали микробное разнообразие и количество таксонов в ризосфере и внекорневой почве. В целом, агрогенная эвтрофикация в виде длительного внесения удобрений полностью перекрывала влияние растений на ризосферный микробиом, что приводило к сближению микробных сообществ ризосферы и внекорневой почвы.

Закключение. Полученные результаты показывают, что система удобрения является наиболее значимым фактором, определяющим численность и структуру тотальных и активных сообществ прокариот и грибов как во внекорневой почве, так и в ризосфере растений. Таким образом, традиционная концепция о доминирующей роли растений в формировании микробного сообщества ризосферы, доказанной для естественных экосистем, не подтвердилась для агроценозов и должна быть пересмотрена.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 19-04-00315.



ВЛИЯНИЕ МИНИМАЛЬНОЙ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ НА СООБЩЕСТВА МИКРОМИЦЕТОВ В АГРОЧЕРНОЗЕМАХ

Никитин Д.А.^{1*}, Семенов М.В.¹, Тхакахова А.К.¹, Чернов Т.И.¹,
Ксенофонтова Н.А.^{1,2}, Железова А.Д.¹, Иванова Е.А.¹, Кутовая О.В.¹

¹Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

²МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

*e-mail основного автора: dimnik90@mail.ru

Технология ресурсосберегающего земледелия no-till предложена в качестве альтернативы традиционной обработке почвы. Применение no-till помогает восстановить естественную структуру почвы, однако ее влияние на почвенную микобиоту не ясно.

Цель работы – оценка численности и таксономии культивируемых микромицетов в агрочерноземах Ставропольского научно-исследовательского сельского хозяйства (СНИИСХ), где в течение 7 лет применяли традиционную обработку почвы и no-till при выращивании кукурузы, сои, подсолнечника и озимой пшеницы. Контролем являлась залежь.

Таксономию микромицетов определяли методом микробиологического посева на агаризованные среды Чапека и Гетчинсона с целлюлозой. Идентификацию штаммов проводили по определителям и анализу участка ITS рДНК.

Численность микромицетов составляла от 2.0×10^3 до 2.7×10^4 КОЕ/г почвы. Максимум – в образцах с традиционной обработкой и соей. Минимум – в образцах полей под no-till и озимой пшеницей. Значения выше для образцов на среде Гетчинсона, чем для Чапека. Выделено 63 вида, которые относятся к 35 родам из 2 отделов. *Mucoromycota* представлен родами *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Umbelopsis*, *Zygorrhynchus*; *Ascomycota* – 3 телеоморфными (*Chaetomium*, *Eurotium* и *Talaromyces*) и 28 анаморфными родами. Также выделено 2 типа стерильных мицелия. Наибольшее число видов у родов: *Penicillium* и *Aspergillus* (по 8 видов). Максимальная встречаемость – у *Penicillium janthinellum* (в 44 образцах из 46), *Acremonium strictum* (в 38 образцах), *Fusarium solani* и *Aspergillus fumigatus* (в 31 образцах). Количество видов колебалось от 7 до 30 на образец. Максимум видов – в поле, обрабатываемого традиционно под соей, минимальное – в поле no-till также под соей. По обилию, численности и разнообразию преобладают целлюлозолитические и олиготрофные/сапротрофные микромицеты. Меньше фитопатогеннов, максимум которых (10^3 - 10^4 КОЕ/г почвы) в полях no-till. Численность микромицетов условно патогенных для человека (группы BSL-1 и BSL-2), эккрисотрофов и эпифитов невысока (10^1 - 10^2 КОЕ/г почвы) везде. Редки энтомопатогены *Clonostachys*, *Metarhizium*, *Pochonia*. Таким образом, длительное применение no-till сокращает численность сапротрофных и целлюлозолитических, но не влияет на количество фитопатогенных и условно-патогенных для человека микромицетов. Традиционная обработка почв СНИИСХ увеличивает долю эккрисотрофов и представителей рода *Penicillium*.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, проект № 19-16-00053



РАЗНООБРАЗИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПРОКАРИОТНОЙ ГИДРОЛИТИЧЕСКОЙ ПОЧВЕННОЙ КОМПОНЕНТЫ

Манучарова Н.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения,
Москва, manucharova@mail.ru

Выяснение свойств почв, способствующих формированию и сохранению биоразнообразия, получение культур микроорганизмов, обладающих биотехнологическим потенциалом (азот-фиксация, гидролитическая деятельность природных полимеров и ксенобиотиков, синтез вторичных метаболитов) - важная научная проблема современной биологии и почвоведения.

Целью работы было изучение таксономического и функционального разнообразия прокариотной компоненты, обладающей биотехнологическим потенциалом, способной к метаболической активности в современных и реликтовых почвенных местообитаниях, различающихся параметрами основных экологических факторов.

Объектами исследования являлись микробные сообщества современных почв (чернозема, серой лесной, каштановой) и реликтовых местообитаний (подкурганные каштановые почвы, погребенные вулканические слоисто-пепловые почвы Камчатки, образцы многолетнемерзлых грунтов Антарктиды). К изучению прокариотных сообществ использовался комплексный подход: молекулярно-биологические методы оценки (высокопроизводительное секвенирование и метагеномный анализ результатов с выявлением доминантов сообщества, обладающих различными биотехнологическими функциями; определение метаболически активных компонент отдельных групп и таксонов методом флуоресцентной *in situ* гибридизации); определение физиологического состояния микробных сообществ методами газовой хроматографии.

На основе экофизиологических критериев определена функциональная значимость гидролитических прокариотных микробных комплексов в наземных экосистемах, выявлена степень толерантности исследуемых микробных сообществ к экстремальным параметрам экологических факторов. Установлена возможность классификации и биодиагностики образцов наземных экосистем по структурному показателю микробного комплекса, в том числе по его гидролитической составляющей. Выявленное возрастание потенциальной активности сообществ по мере увеличения степени «законсервированности» открывает возможности для биотехнологического использования штаммов, выделенных из реликтовых местообитаний.

ДИНАМИКА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОЧВЫ В РАЗЛИЧНЫХ МАСШТАБАХ ВРЕМЕНИ

Чернов Т.И., Железова А.Д., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Никитин Д.А., Кутовая О.В.

Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва
chern-off@mail.ru

Динамика почвенных микробных сообществ имеет разную природу и силу на разных отрезках времени. В данной работе обобщены различные механизмы временной изменчивости микробных сообществ почвы: от краткосрочных до многолетних.

Наиболее быстрые изменения микробных сообществ в почве выражаются в изменении метаболической активности, интенсивности роста и соотношении вегетативных и покоящихся форм.



Резкое повышение метаболической активности наблюдается в так называемых «горячих точках» (hotspots), которые обычно представляют собой локусы повышенного содержания органического вещества. Также к резким изменениям может приводить резкая засуха, увлажнение сухой или оттаивание замерзшей почвы.

Сезонная динамика почвенных микробиомов является результатом изменения температуры и влажности почвы, содержания углерода и азота, а также эмиссии легкодоступных органических соединений корнями растений. Активность микроорганизмов в течение года изменяется в несколько раз. Динамика общей биомассы микроорганизмов, в зависимости от типа почвы и климата, может оцениваться как незначительная, изменяться в течение года в 2–4 раза или на порядок и более. Влияние сезонных различий на численность и таксономический состав микроорганизмов может быть более значимым, чем влияние состава растительности, сельскохозяйственного использования и пространственной неоднородности почвы, что необходимо учитывать при сравнительном анализе микробных сообществ географически удаленных почв.

Многолетние изменения почвенных микробных сообществ почвы изучаются в рамках длительных почвенно-экологических процессов: первичного почвообразования или рекультивации почвы после различных нарушений, смены растительных ассоциаций, долгосрочного антропогенного влияния или изменения климата. Основными факторами динамики микробного разнообразия в процессе почвообразования являются изменения pH, растительного покрова и содержания органического вещества. Общая численность и биомасса микроорганизмов как правило увеличиваются, а разнообразие может практически не меняться или даже уменьшаться в процессе почвообразования.

Растительность и содержание органического вещества являются, по всей видимости, основными факторами динамики микроорганизмов в разных временных диапазонах.

Работа выполнена при поддержке РФ (проект № 17-16-01057) и РФФИ (проект № 18-34-00114).

ОЦЕНКА МЕТАБОЛИЧЕСКИ АКТИВНОГО МИКРОБНОГО КОМПЛЕКСА ПРИКОРНЕВОЙ ЗОНЫ ЯЧМЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*HORDEUM VULGARE* L.).

Пинчук И.П.¹, Манучарова Н.А.²

¹Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН - обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушкино, irun12@list.ru

²Факультет почвоведения, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, manucharova@mail.ru

Взаимодействия корневых систем растений и микроорганизмов всегда были одним из важнейших направлений исследований в почвенной биологии. С появлением новых приемов и методов стало возможным по-новому взглянуть на процессы, происходящие в прикорневой зоне растений.

Целью работы являлось исследование особенностей изменений метаболически активных комплексов бактерий и архей в прикорневой зоне ячменя обыкновенного в процессе его вегетации. Были исследованы образцы дерново-подзолистой почвы (контроль) и прикорневой зоны ячменя (пробы отбирались на 4, 14, 19 и 35-е сутки вегетации растения). Исследования проводились при помощи метода FISH (*fluorescence in situ hybridization*). Были использованы зонды для различных филумов представителей доменов Bacteria и Archaea.

Биомасса метаболически активных клеток домена Bacteria была меньше в контрольной почве по сравнению с прикорневой зоной. В течение развития растения биомасса представителей этого домена снижалась, при этом наиболее выраженными эти изменения были в ризоплане (на корнях растения). Среди филумов домена Bacteria и в контрольной почве и в прикорневой зоне доминировали представители *Verrucomicrobia*, *Gammaproteobacteria*. Биомасса бактерий



филума *Firmicutes* была велика в контрольной почве, а филумов *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Alphaproteobacteria* - в прикорневой зоне.

Биомасса метаболически активных комплексов домена Archaea возрастала в процессе развития растения во всех зонах (максимально – в ризоплане). И в контрольной почве и прикорневой зоне преобладал филум *Thaumarchaeota*. В прикорневой зоне было отмечено небольшое увеличение биомассы представителей *Euryarchaeota*.

Таким образом, полученные результаты показывают, что почва определяет разнообразие микроорганизмов в прикорневой зоне. Но растение посредством корневой системы изменяет и формирует микробные сообщества в соответствии со своими нуждами.

КРУГЛЫЙ СТОЛ: КОЛЛЕКЦИИ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ

НОВЫЕ ТЕНДЕНЦИИ В СИСТЕМАТИКЕ ПРОКАРИОТ

Дедыш С.Н.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Введение методов геномного анализа в повседневную практику микробиологических исследований повлекло за собой ряд важных нововведений и предложений по изменению подходов, используемых в систематике прокариот. Некоторые из них, такие, например, как необходимость определения и сравнительного анализа последовательностей геномов, уже являются обязательными требованиями к описанию новых видов и родов прокариот. Установление границ таксонов высокого порядка также проводится путем использования сравнительного геномного анализа, однако методология последнего пока не унифицирована и отличается у различных исследовательских групп. Целью настоящего сообщения является ознакомление специалистов, работающих в области систематики микроорганизмов, с решениями совместного заседания ведущих коллективов в области филогеномики прокариот – основателей платформ *Genome Taxonomy Database* (группа Hugenholtz) и *Genome-based phylogeny* (биоинформатическая группа Немецкой коллекции микроорганизмов), которое было организовано *Bergey's Manual Trust* при участии представителей базы данных SILVA в июле 2018 г. Еще один важный блок новостей составляют недавние предложения по совершенствованию номенклатуры прокариот и введению независимой системы описания новых таксонов некультивируемых микроорганизмов на основании геномного анализа.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ КОЛЛЕКЦИЙ В РОССИИ

Пименов Н.В.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

В настоящее время коллекционная деятельность в России находится на стадии разработки на ближайшие годы новой программы развития, предусматривающей выработку единых положений и правил для разных коллекций микроорганизмов в организациях, подведомственных недавно образованному Министерству науки и высшего образования. В 2016-2017 гг. в рамках дополнительного госзадания ФАНО РФ были выделены целевые средства на разработку СОП, создание единой информационной системы и поддержки ведущих коллекций микроорганизмов, а также средства на развития приборного парка в ведущих организациях - держателей коллекций всероссийского и международного уровней. Всего в базе данных ФАНО РФ было зарегистрировано 58 коллекций микроорганизмов, имеющих более 115000 единиц хранения, из которых 12 коллекций получили финансовую поддержку. Предполагалось, что в дальнейшем список коллекций с гос. поддержкой будет расширяться. К сожалению, в связи с лик-



видацией ФАНО в 2018-2019 гг. финансирование коллекций прекратилось. Однако, совсем недавно Минобрнауки выступило с инициативой разработки нормативной документации для продолжения с 2020 г. финансирования ведущих коллекций РФ.

Существует несколько вариантов получения финансирования:

- организация на базе ведущих коллекций нескольких (не более 2-3) биоресурсных центров (БРЦ), которые станут не только точкой аккумуляции финансовых средств, но и будут ответственны за разработку необходимой сервисной и правовой базы, а также обеспечивать надежное хранение имеющегося коллекционного фонда;

- распределение средств среди ведущих коллекций в соответствии со значимостью коллекции, количеством единиц хранения, сложностью их сохранения и т.д.

Очевидно, что в условиях сегодняшних реалий от держателей коллекций потребуются немало усилий для выработки в ближайшие годы надежных механизмов организации финансирования коллекционной деятельности в РФ.

КОЛЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И НОВЫЕ ВЫЗОВЫ

**Леонтьевский А. А., Евтушенко Л.И.*

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино, lie99@mail.ru

Фонды и направления деятельности коллекций микроорганизмов отражают прогресс и потребности микробиологии и связанных с ней областей фундаментальной науки и биотехнологии. Первые коллекции микроорганизмов возникли в конце XIX века в Европе вследствие быстрого развития исследований и увеличением числа культур, подлежащих сохранению в коллекциях с целью их дальнейшего изучения и использования. В Российской империи коллекции микроорганизмов начали формироваться в конце XIX – начале XX вв. Однако практически все они были утеряны во время первой мировой, гражданской и второй мировой войн.

Начало существования Всесоюзной коллекции микроорганизмов (ВКМ) относится к 1958 г., когда по решению Президиума АН СССР в Институте микробиологии АН СССР был создан Отдел типовых культур. По мере организации в стране отраслевых и других специализированных коллекций, деятельность и фонды ВКМ (Отдела типовых культур) все в большей степени фокусировалась на направлении «микробное разнообразие».

В 1980 г. по решению Президиума АН СССР коллекция была передислоцирована из ИНМИ в Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН (ИБФМ РАН), Пущино. Были утверждены официальное название коллекции (Всесоюзная коллекция микроорганизмов – ВКМ), Положение о ВКМ, а также характер и основные направления деятельности. В сообщении приводятся основные сведения по истории формирования, направлениях деятельности и перспективах развития Всероссийской коллекции микроорганизмов (www.vkm.ru), а также проблемах и возможных путях их решения.

В докладе обсуждается не утратившая своей актуальности концепция Биологических ресурсных центров (БРЦ) – коллекций культур новой генерации, предложенная Организацией по экономическому сотрудничеству и развитию (ОЭСР), и эволюция концепции (появление, в частности, категории «Trusted collections»). Согласно определению ОЭСР, БРЦ является ключевым элементом инфраструктуры наук о жизни и биотехнологии и включает депозитории культивируемых организмов и их воспроизводимых частей, жизнеспособных но пока не культивируемых организмов, а также базы данных с разноплановой информацией о фондах и необходимый инструментарий биоинформатики и научных исследований.

Темпы приращения нового знания и растущий поток биоматериалов, требующих депонирования в коллекциях, а также объемы поступающей информации и разнообразие других задач и функций коллекций в сфере изучения и использования микробного разнообразия (обеспечение выполнения государствами международных обязательств, регулятивных и охранительных



функций, касающихся биобезопасности, защиты интеллектуальной собственности, легитимного оборота биоматериалов и т. д.) определяют необходимость международной кооперации, создания баз данных и информационных сетей, в том числе, международных. В сообщении приводятся сведения о соответствующих проектах, в их числе проект по созданию пан-Европейской инфраструктуры исследований микробных ресурсов – «Microbial Resource Research Infrastructure» (MIRRI, <http://www.mirri.org>), в котором участвует ВКМ.

Обсуждается возможность создания в России единой информационной сети российских коллекций, с единым порталом и объединенным каталогом, а также организация Российского национального узла MIRRI.

СПОСОБЫ ДЛИТЕЛЬНОГО ВЫЖИВАНИЯ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ: ФУНДАМЕНТАЛЬНОЕ И ПРИКЛАДНОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Мулюкин А.Л.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва,
andlm@mail.ru

Проблема длительного существования бактерий в условиях, не способствующих росту и размножению клеток, приобретает все больший интерес в различных областях естествознания, медицины и биотехнологии, что отражено в многочисленных обзорах и публикациях. Изучение форм и механизмов выживания бактерий особенно актуально в связи с: обнаружением микроорганизмов в древних экосистемах, в том числе, вечной мерзлоте; персистенцией возбудителей инфекционных заболеваний в организме и окружающей среде; устойчивостью к антимикробным препаратам. С применением комплексного подхода, основанного на применении классических микробиологических, биохимических, прямых микроскопических и молекулярных методов, было доказано наличие у широкого круга неспорообразующих бактерий разнообразных покоящихся форм. Они характеризовались: отличиями в ультраструктурной организации; длительным сохранением способности к репродукции; предельно заторможенным метаболизмом; повышенной устойчивостью к повреждающим воздействиям. Получены данные в пользу гипотезы о трансформации антибиотико-толерантных клеток-персистеров псевдомонад и стафилококков в покоящиеся и некультивируемые клетки, описанные ранее для многих бактерий. Прямые электронно-микроскопические исследования образцов вечной мерзлоты показали наличие в них клеток, сходных по строению с покоящимися формами цистовидного типа, которые были выявлены в длительно инкубируемых суспензионных культурах и биопленко-подобных экзополимерных структурах. С учетом высокой вероятности нахождения в природных образцах покоящихся клеток с прочными клеточными оболочками были разработаны специальные процедуры для эффективного извлечения ДНК, что существенно для анализа структуры микробных сообществ молекулярно-генетическими методами. Для более полного учета численности выживших микроорганизмов были отработаны приемы, обеспечивающие возможность реверсии клеток к росту. Разработанные подходы к получению устойчивых форм бактерий могут быть полезны для поддержания штаммов в коллекциях, а способы реактивации клеток – для выделения новых микроорганизмов и восстановления длительно хранящихся микробных культур.



ОПЫТ ГАРАНТИРОВАННОГО СОХРАНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ ВКМ

Иванушкина Н.Е., Кочкина Г.А., Данилогорская А.А., Пинчук И.П. Озерская С.М.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН - обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, nei@dol.ru

Всероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ) была основана в 1955 году и до сих пор является самой крупной в России по разнообразию представленных организмов. Суммарный фонд мицелиальных грибов ВКМ составляет более 7000 штаммов, которые представляют 560 родов и 1556 видов. Среди них - аскомицеты (*Fungi, Dikarya, Ascomycota*) – 371 род, 1115 видов; базидиомицеты (*Fungi, Dikarya, Basidiomycota*) – 134 рода, 225 видов; культуры, относящиеся к зигомицетовым грибам, представители подцарств: *Mucoromycota* – 34 рода, 147 видов, *Zoopagomycota* – 9 родов, 14 видов, *Basidiobolomycota* – 1 род, 2 вида. Некоторые организмы, ранее являвшиеся представителями царства *Fungi*, кардинально поменяли таксономическое положение, но, тем не менее, они продолжают сохраняться в грибном фонде ВКМ. Это «оомицеты», относимые теперь к царству *Chromista* – 9 родов, 51 вид, и «миксомицеты» - к царству *Protozoa* – 2 рода, 2 вида.

Коллекция мицелиальных грибов ВКМ интересна не только разнообразием фонда, но и наличием культур, имеющих важное прикладное значение; редких и краснокнижных видов шляпочных базидиомицетов (*Hericium coralloides, Sparassis crispa, Strobilomyces strobilaceus*), фитопатогенов (*Alternaria, Athelia, Fusarium, Puccinia*), разрушителей промышленных материалов и т.д.

Важнейшей функцией коллекционной работы является гарантированное сохранение фонда в жизнеспособном состоянии в течение длительного времени, для чего обязательным является использование для каждого штамма одновременно нескольких методов хранения. Выбираемые методы учитывают особенности каждой из сохраняемых культур, а также имеющееся в наличии оборудование.

В настоящее время для мицелиальных грибов ВКМ используется 7 методов хранения фонда с применением разных протоколов криоконсервации, высушивания и субкультивирования. Жизнеспособность культур в ходе хранения регулярно проверяется. К настоящему времени накоплен большой объем данных о сроках гарантированного хранения мицелиальных грибов, в ряде случаев в течение более чем 50 лет. Анализ результатов использования различных методов консервации штаммов мицелиальных грибов ВКМ будет представлен в докладе.

СЪЕЗД МЕЖРЕГИОНАЛЬНОГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ОБЩЕСТВА

РУССКИЕ МИКРОБИОЛОГИ В ИНСТИТУТЕ ПАСТЕРА

Колотилова Н.Н.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва,
kolotilovan@mail.ru

С Институтом Пастера связана особая страница в истории отечественной микробиологии. О растущем интересе к этой теме свидетельствует создание двуязычного сайта (frru.org), посвященного истории российско-французских научных связей в Институте Пастера.

Институт Пастера – крупнейший научный микробиологический институт, с которым связаны имена восьми Нобелевских лауреатов; колыбель иммунологии и молекулярной биологии. В 1889 г. в Институте были организованы знаменитые Бактериологические курсы, благодаря которым он стал также центром обучения микробиологии. Здесь стажировались и работали уче-



ные не только из Франции, но многих стран Европы, Африки, Азии, Южной Америки. В разных странах были созданы его многочисленные филиалы, где работали посланцы Л.Пастера.

Особенно тесное сотрудничество с Институтом Пастера сложилось у российских ученых; трое из них (Н.Ф.Гамалея, И.И.Мечников и С.Н.Виноградский) были приглашены в Институт лично Пастером.

Многие российские биологи и врачи учились на Бактериологических курсах и в лаборатории И.И.Мечникова (среди них В.И. Исаев, А.И. Войтов, Н.Я. Чистович, Ф.Я. Чистович, Г.Н. Габричевский, Л.А. Тарасевич, М.Я. Преображенский, И.Г. Савченко, Б.Ф. Вериги, К.Э. Вагнер, В.Н. Гейнац, И.И. Судакевич, И.Г. Лорис-Меликов, П.А. Аргутинский-Долгоруков, В.В. Половцев, Ф.К. Трапезников, Н.А. Благовещенский, О.А. Байрашевский, Л.О. Стратьевский, И.Я. Атласов, Г.Я. Острянин, В.И. Недригайлов, С.А. Иванов, П.П. Заболотнов, А.Н. Червенцов, В.А. Юревич, Г.Д. Белоновский, В.А. Барыкин, первые женщины-микробиологи Л.М. Горовиц-Власова, В.А. Ковалевская, М.Н. Маргулис-Аитова, П.В. Циклинская и др.).

И.И. Мечников и ряд его будущих сотрудников, покинувших Россию еще до революции 1917 года (М.В.Вейнберг, А.М.Безредка, Э.М.Вольман), навсегда связали свою жизнь с Институтом Пастера и Францией. После революции Институт Пастера стал одним из крупных центров русской научной эмиграции, дав многим ученым возможность заниматься профессиональной деятельностью и реализовать свой научный потенциал. Укажем среди них имена С.Н.Виноградского, С.И.Метальникова, К.А.Туманова, М.Я.Преображенского, М.Н.Маргулис-Аитовой, Е.С.Виноградской, В.А.Юревича, А.Т.Васильева, В.М.Зернова, М.А.Волконского, Н.А.Булгакова, В.К.Агафонова и др. Некоторые эмигранты (В.А.Шорин, Р.М.Шен) позднее вернулись в СССР.

Институт Пастера сыграл немаловажную роль в укреплении советско-французских научных связей. Развитие связей российских ученых с Институтом Пастера продолжается и сегодня.

СТЕНДОВАЯ СЕССИЯ

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КСИЛАНАЗЫ В ХИМИКО-ЛЕСНОМ КОМПЛЕКСЕ

Аксенов А.С., Юницына О.А., Пучнина А.А.

Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова, Архангельск,
a.s.aksenov@narfu.ru

Ксиланолитические ферментные препараты имеют большое значение в ряде промышленных процессов, ввиду стремительно растущей тенденции к экологически чистой индустриализации. Биокаталитические процессы, направленные на деструкцию ксилана, основного представителя гемицеллюлоз растений (20-35 %), повышают эффективность переработки биомассы и являются основой для разработки новых технологии конверсии сырья. Одним из востребованных направлений использования ксиланазных препаратов является целлюлозно-бумажная промышленность, что обеспечивает снижение расхода белящих реагентов и уменьшение загрязненности сточных вод хлорорганическими соединениями.

Целью работы было оценить эффективность использования ксиланазы, выделенной из термофильных бактерий в процессе отбелки сульфатной целлюлозы в лабораторных условиях.

В качестве объекта исследований выступил ксиланазный ферментный препарат, выделенный из термофильной бактерии *Geobacillus thermodenitrificans*. Биокаталитическую стадию обработки небеленой листовенной сульфатной целлюлозы (ОАО «Архангельский ЦБК») проводили при концентрации субстрата 3,5% в ферментере Biostat A Plus (Sartorius, Германия) объемом 1 л со скоростью перемешивания 150 об/мин при температуре $65\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 8,0 в течение 60 минут. Расход ферментного препарата задавали по эндоксиланазной активности, исходя из значений дозировки промышленных ферментов, используемых на ЦБК – 0,4 Ед/г целлюлозы. Отбелку целлюлозы проводили при концентрации сульфатной целлюлозы 8 % с применением



диоксида хлора и щелочной экстракции продуктов деструкции лигнина по ECF-схеме: Д0–Щ–Д1–Д2–К.

В результате проведения ферментативной обработки целлюлозы бактериальным ферментным комплексом часть компонентов субстрата перешло в раствор, о чем свидетельствует снижение степени делигнификации сульфатной целлюлозы и увеличение концентрации углеводов в фильтрате в сравнении с контрольным образцом. Последующая отбелка позволила на 6 % сократить расход активного хлора и увеличить на 1,4 % конечную белизну целлюлозы, что свидетельствует об улучшении белимости целлюлозы, обработанной новым ферментом. Таким образом, в лабораторных условиях продемонстрирована возможность практического использования термостабильной бактериальной ксиланазы в химико-лесном комплексе.

Работа выполнена в рамках базовой части государственного задания Минобрнауки РФ № 15.8815.2017/8.9 «Молекулярно-биологические методы в биотехнологии термостабильных ферментов».

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ КИСЛОРОДА НА АКТИНОБАКТЕРИЙ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Аксенов-Грибанов Д.В.^{1,2}, Краснова М.Е.¹, Перелеева Е.В.¹, Лубяга Ю.А.^{1,2}, Золотовская Е.Д.¹,
Васильева Е.А.¹, Тимофеев М.А.^{1,2}

ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск
АНО «Байкальский исследовательский центр», Иркутск, denis.axengri@gmail.com

Ввиду высокой изученности классических и почвенных экосистем, особую значимость приобретают природные территории и экосистемы с особыми характеристиками, например, озеро Байкал, которое, помимо высочайшей степени биоразнообразия, отличается своими низкими температурами и высочайшим содержанием кислорода. Это создает существенные предпосылки для изучения воздействия кислорода на биосинтетический потенциал байкальских продуцентов.

В ходе проводимых работ оценено влияние кислорода на выделение актинобактерий, для чего были выполнены посевы гомогенатов байкальских амфипод на различные питательные среды. Термостатирование посевов проводили при температуре 28°C, а повышенное содержание кислорода в камере осуществляли с применением кислородного концентратора марки Armed. Выделенные штаммы культивировали в жидких питательных средах при стандартных условиях и при условиях повышенного содержания кислорода в камере термостата. Оценку состава природных соединений проводили в ходе ВЭЖХ с МС-детектором высокого разрешения LTQ Orbitrap (Thermo Fisher Scientific), а также проводили оценку антирадикальной активности экстрактов.

Установлено, что среда, обогащенная кислородом является фактором, значительно увеличивающим возможность выделения актинобактериальных культур и их большего видового разнообразия. В ходе длительного эксперимента антирадикальная активность штамма *Nonomuraea* sp. IB9-21 незначительно повысилась в контрольной группе после 80 дней, тогда как изменений в экспериментальной группе выявлено не было. При проведении поиска новых природных соединений было проанализировано 77 природных соединений, 38 из которых были представлены соединениями, не имеющими аналогов. Два соединения, характеризующиеся массами 656,47123 Да и 580,5029 Да и временем удержания 13.55 и 15.70 минут, соответственно, были обнаружены в экстрактах при культивировании микроорганизмов в присутствии кислорода и не были зафиксированы в контрольных образцах.

Таким образом, показано, что среда, обогащенная кислородом, оказывает значимый эффект на физиологические и биосинтетические характеристики актинобактерий.

Исследование проведено при частичной финансовой поддержке проекта РНФ (18-74-00018), РФФИ (18-34-00294, 18-29-05051), проекта Минобрнауки РФ 6.9654.2017/8.9, а также инфраструктурного комплекса АНО Байкальский исследовательский центр.



ФОРМИРОВАНИЕ RPOС-НЕЗАВИСИМОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ПРИ СТРЕССЕ У *PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM* SCRI1043

Александрова К.Д., Петрова О.Е., Горшков В.Ю., Гоголев Ю.В.

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН,
Казань, kibmail@kibb.knc.ru, alexenia15@gmail.com

Растущая резистентность микроорганизмов к различным стрессорам является актуальной проблемой. Ключевым регулятором адаптивных реакций бактерий считается альтернативный сигма фактор RpoS, контролирующий экспрессию генов резистентности бактерий. Однако недавно были описаны особые адаптивные реакции бактерий, которые не зависят от действия RpoS, но приводят к формированию перекрестной устойчивости. Цель работы: выяснение роли RpoS в формировании бактериальной устойчивости, в том числе, перекрестной. В качестве объекта изучения стрессового ответа бактерий использовали фитопатогенный микроорганизм *Pectobacterium atrosepticum*.

В ходе работы *P. atrosepticum* культивировали на средах, дефицитных по азоту или углероду, сравнивали устойчивость вегетативных и голодающих клеток дикого и RpoS-дефицитного штаммов *P. atrosepticum* к тепловому шоку и окислительному стрессу. Для оценки уровня экспрессии *groS* выделяли РНК из бактерий, проводили обратную транскрипцию и ставили количественную ПЦР.

Мы выяснили, что при голодании на безуглеродной среде индуцируется экспрессия гена *groS*, а на безазотной среде увеличения количества транскриптов этого гена не происходит. Отсутствие гена *groS* не препятствует адаптации бактерий к азотному или углеродному голоданию. Зависимость перекрестной устойчивости от наличия гена *groS* определяется типом первичного и вторичного стрессора: при голодании по углероду перекрестная устойчивость к температурному шоку не формируется у *groS*-дефицитного мутанта, а при голодании по азоту этот мутант не теряет резистентности к последующему температурному шоку. Адаптация к тепловому шоку может осуществляться как *groS*-зависимым, так и *groS*-независимым способом, а перекрестная устойчивость к окислительному стрессу всегда требует функционального гена *groS*.

Таким образом, было установлено, что формирование устойчивости к первичному стрессору (голод) происходит по RpoS-независимому механизму. Формирование RpoS-зависимого или RpoS-независимого типа перекрестной устойчивости определяется природой лимитирующего макроэлемента в среде культивирования и типом вторичного стрессового фактора. Глобальный стрессовый регулятор RpoS не всегда является обязательным компонентом стрессового ответа у бактерий, а формирование множественной устойчивости, по-видимому, может контролироваться другими регуляторными факторами.

Работа поддержана Грантом РФФ № 19-14-00194.

СООБЩЕСТВО МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ БОЛОТНО-ТОРФЯНОЙ ПОЧВЫ

Алексеева Л.М.^{1,2*}, Узун М.М.^{1,2}, Козяева В.В.¹, Круткина М.С.¹, Груздев Д.С.¹

¹ Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

² ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Москва,
al.lolita96@gmail.com

Магнитотактические бактерии (МТБ) известны своей уникальной способностью к биоминерализации. Они могут синтезировать кристаллы магнетита или грейгита, окруженные липопотеиновой мембраной. До недавнего времени МТБ были обнаружены среди филумов



Proteobacteria, Nitrospirae, Omnitrophica, Planctomycetes, Latescibacteria. В основном, их разнообразие изучали в водных экосистемах, при этом об их представленности в почвенных микробных сообществах известно крайне мало. В связи с этим целью данной работы было исследование разнообразия МТБ в почвах.

В качестве объекта исследования была взята болотно-торфяная почва. С помощью метода МТВ-CoSe (*Magnetotactic Bacteria Column Separation*) была получена обогащенная фракция чувствительных к магниту бактерий. С использованием праймерной системы специфичной к гену *mamK*, отвечающему за упорядоченное расположение магнетосомной цепи в клетке, было подтверждено наличие МТБ в данной фракции. С использованием метода высокопроизводительного секвенирования был изучен микробный состав обогащенной фракции. Было получено 52399 парных чтений V3-V4 региона гена 16S рПНК, которые были объединены с использованием пакета программ QIIME в 1273 ОТЕ с уровнем сходства последовательностей более 97% и определена их таксономическая принадлежность. Из 13 ОТЕ с представленностью более 2% удалось идентифицировать на уровне филума или ниже лишь 6 ОТЕ и все они являлись представителями класса *Deltaproteobacteria*. Для дальнейшего изучения и установления филогенетической принадлежности бактерий обогащенной фракции МТБ было проведено секвенирование тотальной ДНК. В результате был получен метагеном состоящий из 15763 скаффолдов (≥ 1000 пн) размером 38,566,314 пн. С помощью программ BusyBee, MyCC, Maxbin2.0 и DASTool были реконструированы 4 генома МТБ и определены гены, ответственные за биоминерализацию магнетосом. Таксономическое положение полученных геномов было определено с использованием GTDB-Tk v.0.1.3 toolkit. В результате 2 генома относились к классу *Deltaproteobacteria*, 1 к филуму *Omnitrophica* и 1 к филуму *Elusimicrobia*. МТБ впервые были обнаружены среди представителей филума *Elusimicrobia*. Полученные данные свидетельствуют о высоком разнообразии МТБ в почвенных микробных сообществах. Таким образом, почвы являются перспективным объектом изучения для обнаружения новых групп МТБ.

Работа была поддержана грантом РФФИ18-34-01005 мол_а.

СИСТЕМНЫЙ МОНИТОРИНГ МИКОБИОТЫ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ ГЕРМОЗАМКНУТОЙ ЭКОНИШИ РОССИЙСКОГО СЕГМЕНТА МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

Алехова Т.А.¹, Александрова А.В.¹, Новожилова Т.Ю.¹, Загустина Н.А.²

¹ Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, info@mail.bio.msu.ru

² Федеральный исследовательский Центр «Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук, Москва, zagust@inbi.ras.ru

Микроскопические грибы заселяют антропогенные места обитания и космические станции не являются исключением. Многие из них способны вызывать биоповреждения материалов.

С начала эксплуатации (2002 г.) Российского сегмента Международной космической станции (РС МКС) в течение 18 лет на его борту проводится космический эксперимент (КЭ) «Начальные этапы биодеградаци и биоповреждений в условиях космоса».

Цель КЭ - изучение колонизации микромицетами поверхности различных конструкционных материалов, определение их видового состава, идентификация микромицетов-деструкторов, а также разработка способов подавления их жизнедеятельности.

Для отбора проб с поверхности различных материалов и доставки их на Землю для последующего анализа используется укладка «Биопробы» (25 проб).

В настоящее время выполнено 34 цикла КЭ (по 2019 г.). Создана коллекция микроскопических грибов, включающая 52 вида, относящихся к 16 родам. Представители 10 типичных видов, способных вызывать биоповреждения, депонированы в ВКМ. Основные, регулярно выделяемые виды: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. sydowii*, *A. versicolor*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P.*



chrysogenum, *P. expansum*, *P. spinulosum*, *Ulocladium botrytis* и *Rhodotorula sp.* Из них 8 (кроме *P. spinulosum* и *U. botrytis*) были наиболее массовыми и на станции «Мир», где нами было выявлено 15 видов.

Микромицеты из коллекции эффективно используются в наземных разработках для создания имитационных составов при моделировании биоповреждений материалов и оценки их устойчивости, анализа влияния биоповреждений на механическую прочность материалов.

Полученные в ходе КЭ научные и практические результаты не имеют аналогов. Впервые в мировой практике в режиме системного мониторинга исследуется микобиота в экониче обитаемого космического аппарата и ее взаимосвязь с конструкционными материалами в ходе эксплуатации РС МКС.

ЭКОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ РС МКС

Алехова Т.А., Воробьева Е.А., Горленко М.В.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, altanj@gmail.com

Международная космическая станция представляет собой мультисегментный космический аппарат (КА) длительного использования на низкой околоземной орбите. За период эксплуатации в гермозамкнутых помещениях сегментов создаются специфические условия для формирования микробных экосистем. Проведение мониторинга функциональной активности микробных сообществ необходимо в связи с возможностью развития неблагоприятной экологической обстановки, влияния микроорганизмов на здоровье экипажа, а также возможностью повреждения материалов вследствие селекции агрессивных штаммов.

Исследование имело целью провести сравнительный анализ динамики функциональной активности микробных экосистем, сформировавшихся в жилых и рабочих помещениях Российского сегмента Международной космической станции (РС МКС).

Пробы для исследования отбирали в местах возможного размножения микроорганизмов: внутри коммуникационных систем, где происходит образование биопленок, а также в пылесборниках, пыли и на воздушных фильтрах. Содержание микроорганизмов в пробах оценивали методом флуоресцентной микроскопии с последующим учетом и выделением культивируемых гетеротрофных аэробных бактерий и микромицетов. Потенциальную функциональную активность бактериальных сообществ исследовали с помощью дифференциального мультисубстратного тестирования (МСТ) с использованием сета из 47 субстратов. Обработку полученного массива данных осуществляли методами многомерной статистики с программным обеспечением STATISTICA, SPSS, ECOLOG и TAXON.

В течение трех лет наблюдения отмечен рост физиологической активности и биологического разнообразия микробных комплексов в составе пыли, что может свидетельствовать об увеличении концентрации органических веществ в аэрозоле воздуха жилых отсеков КА. На пылевых фильтрах сорбировался потенциально активный микробный комплекс с упрощенной структурой, утилизирующий узкий спектр субстратов. Исследованные бактериальные консорциумы не сбалансированы, не образовали устойчивых межпопуляционных взаимодействий, но поддерживают метаболический потенциал, что предполагает их развитие при благоприятных условиях. Бактериальный комплекс из слизистой оболочки трубопровода проявил признаки устойчивого проточного сообщества, поддерживающего низкий, но постоянный уровень метаболизма с широким спектром активности.

Результаты исследования свидетельствуют о перспективности использования МСТ в числе необходимых показателей мониторинга экологической обстановки на борту пилотируемых КА. Функциональный подход диктует необходимость определения параметрических пределов факторов окружающей среды, препятствующих интенсивному развитию микробных систем.

Ключевые слова: МКС, экология, мониторинг, микроорганизмы



ОЦЕНКА РЕЗЕРВНО-АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГРИБА *ASPERGILLUS TERREUS* ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

Аникина Н.А., Викулова А.С., Смирнов В.Ф.

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород,
biodeg@mail.ru

Одним из направлений проблемы биodeградации промышленных материалов является поиск путей регулирования метаболизма микромицетов-деструкторов, участвующих в био-разложении различных субстратов. Одним из важнейших метаболических процессов является окисление белков. Резервно-адаптационный потенциал (РАП), представляющий собой сопоставление показателей спонтанной окислительной модификации белков к металл-зависимой, дает возможность косвенно оценить устойчивость белков к повреждению при различных экспериментальных моделях. Такой моделью может являться введение в среду культивирования гриба различных синтетических субстратов, способных подвергаться биodeградации данным микромицетом в природных условиях. Представляло интерес исследовать влияние синтетического субстрата, внесенного в среду культивирования, на РАП гриба *Aspergillus terreus* – активного биodeграданта промышленных материалов.

В качестве субстрата использовалась акриловая эмульсия Лакротэн Э-21 (сополимер бутилакрилата – стирола – акриловой кислоты). Культивирование гриба *A. terreus* Thom ВКМ F-1025 производилось на жидкой обедненной по углероду питательной среде Чапека-Докса (ОПС) и на ОПС с добавлением акрилата в течение 16 суток. Акрилат добавляли в среду на 4 сутки культивирования. Оценка спонтанного и металл-катализируемого окисления белков осуществлялась по методу R.L. Levine, в модификации Дубининой Е.Е.

Анализ результатов показал, что при культивировании на ОПС в целом происходит незначительный рост РАП гриба *A. terreus* с течением времени. При этом уровень РАП гриба был достаточно низким на протяжении всего времени экспозиции, что возможно связано с дефицитом углеродного питания. При введении в среду культивирования акрилата РАП гриба возрастал, значительно превышая аналогичные показатели в контроле, в ходе всего эксперимента, подтверждая возможность использования акрилата в качестве источника питания грибом *A. terreus*. На начальных этапах культивирования на среде с добавлением акрилата РАП гриба имел кратковременное снижение, связанное с адаптацией гриба к изменившимся условиям культивирования – исчезновение легкодоступного субстрата и появление труднодоступного.

Таким образом, процесс окисления белков в клетках микроскопических грибов может служить индикатором процесса биоповреждения, а также позволяет косвенным образом оценить степень биодоступности различных материалов.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ПРОБИОТИКОВ: ПОЛЕЗНОСТЬ И ОПАСНОСТЬ

Анисимова Е.А., Горохова И.В., Каримуллина Г.Р., Алкубайли Р. И., Яруллина Д.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
kasfes@gmail.com

Устойчивость пробиотических бактерий к антибиотикам, с одной стороны, является желательным свойством, поскольку только антибиотикорезистентные штаммы можно совмещать с антимикробной терапией для профилактики антибиотик-ассоциированного дисбактериоза. С другой стороны, мобильные и приобретенные гены антибиотикорезистентности (АР) посредством горизонтального переноса генов могут передаваться от пробиотических бактерий другим бактериям, в том числе патогенным, а сами пробиотики могут стать резервуаром для сохранения и распространения генов АР в кишечном микробиоме человека.



Цель работы: характеристика устойчивости пробиотических штаммов лактобацилл к антибиотикам различных классов и оценка мобильности ее генетических детерминант.

Объектом исследования стала коллекция лактобацилл, выделенных нами из коммерческих пробиотических препаратов, и новых штаммов, выделенных из желудочно-кишечного тракта человека, кисломолочных продуктов и растительного материала. Устойчивость к 25 антибактериальным препаратам 17 различных классов оценена диско-диффузионным методом и методом микроразведений. Для обнаружения генов АР использован метод ПЦР с последующим секвенированием полученных амплификатов. Исследована возможность горизонтального переноса генов АР от лактобацилл к условно-патогенным кишечным бактериям в ходе конъюгации и трансформации.

Охарактеризованы профили АР лактобацилл и их резистома. Среди исследованных лактобацилл широко распространена устойчивость к ципрофлоксацину, ванкомицину, аминогликозидам, цефалоспорином 3 и 4 поколения и чувствительность к бета-лактамам, карбапенемам, макролидам, клиндамицину, рифампицину, тетрациклину и хлорамфениколу. Обнаружен целый ряд молчащих генов АР. Отобраны штаммы, несущие гены устойчивости к тетрациклину и эритромицину, которые часто бывают мобильными. По результатам исследования мобильности генов АР, только у *L. fermentum* 5-1 обнаружена способность передавать ген устойчивости к тетрациклину в клетки *Citrobacter freundii* в ходе трансформации.

Полученные данные необходимы для составления обоснованных тактических схем применения пробиотических лактобацилл при этиотропной антибактериальной терапии и способствуют созданию пробиотиков, соответствующих самым строгим требованиям лекарственной безопасности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект РФФИ-17-00-00456).

АНАЛИЗ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ НОВОГО ПЛАНКТОМИЦЕТА ГРУППЫ PIRELLULA

Белова С.Э.^{1*}, Салтыкова В.А.^{1,2}, Куличевская И.С.¹, Иванова А.А.¹, Дедыш С.Н.¹

¹Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный Исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

²Биологический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Планктомицеты – это одна из широко распространенных, но малоизученных групп бактерий. Эти микроорганизмы имеют большие геномы; анализ последних позволил предположить перспективность этих бактерий как источника новых биологически активных веществ и антибиотиков. В контексте проблемы возникновения множественной устойчивости патогенов к имеющимся антибиотикам, поиск новых антимикробных веществ имеет высокую актуальность. Настоящая работа, таким образом, была предпринята для оценки наличия и спектра антимикробной активности у новых изолятов планктомицетов.

Объектом исследования служил штамм планктомицета PX69, выделенный из воды мезотрофного лесного озера Мороцкое (Вологодская обл.). Последовательность гена 16S рРНК штамма PX69 обнаруживала менее 90% сходства с таковыми у таксономически охарактеризованных планктомицетов, что позволяет предположить принадлежность штамма PX69 к новому семейству порядка *Planctomycetales*. Штамм PX69 выращивали на среде с глюкозой и пептоном в качестве субстратов роста. Методология анализа включала сорбцию вторичных метаболитов из культуральной жидкости штамма PX69 на сорбенте Amberlite®XAD®-2 (USA, Supelco, SIGMA-ALDRICH), элюирование сорбированных веществ этилацетатом, удаление этилацетата ротаторным вакуумным испарителем, растворение полученных соединений в метаноле и проверку активности полученных экстрактов в отношении ряда тест-культур бактерий и дрожжей. Анализ воздействия полученных экстрактов на рост тест-культур осуществляли с использованием микропланшетов и сканнера MR-96A ("Mindray", China), а также с помощью дисков, пропитанных экстрактами и наложенных на газоны тест-культур.



Экспериментальные исследования подтвердили наличие антимикробной активности штамма PX69 в отношении следующих культур бактерий: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC K12 F+ и 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6633, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *B. cereus* var. *mycoides* HB, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Наибольшая антимикробная активность наблюдалась в отношении штаммов *Candida albicans* и обнаруживала прямую зависимость от концентрации глюкозы и пептона в среде культивирования. Дальнейшие исследования будут направлены на идентификацию вторичных метаболитов этого планктомицета, обуславливающих выявленную антимикробную активность. Работа выполнена в рамках проекта РНФ 16-14-10210.

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА УЛЬТРАПРЕСНЫХ ОЗЕР В РАЙОНЕ ПОЛЮСА ХОЛОДА, ОЙМЯКОНСКИЙ РАЙОН, ЯКУТИЯ

Башенхаева М.В.¹, Захарова Ю.Р.¹, Копырина Л.И.², Лихошвай Е.В.¹

¹Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск

²Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН г. Якутск
maria.bashenkhaeva@gmail.com

Озера Лабынкыр и Ворота, расположенные в восточной части Якутии в районе Полюса холода Северного полушария, с октября по июнь покрыты льдом толщиной до 1,3 м; средняя температура воздуха зимой равна -50 °С, максимально низкая температура достигала -71,5 °С. По химическому составу озера относятся к ультрапресным, гидрокарбонатного класса, с низким содержанием биогенных элементов и органического вещества. Из-за труднодоступности озер микробное разнообразие ранее не было изучено. Целью данной работы было определить биоразнообразие и таксономическую структуру бактериальных сообществ озер Лабынкыр и Ворота в период ледостава.

Отбор проб проводили в апреле, мае 2016 г. и в июне 2017 г. на четырех станциях в северной, центральной и южной части оз. Лабынкыр и на двух станциях оз. Ворота. Отобраны пробы с нижней поверхности льда и с глубины от 0 до 25 м группой водолазов отряда РГО (г. Череповец) и ЛИН СО РАН (г. Иркутск), а также отобрана проба поверхностного осадка из оз. Ворота. Всего для оз. Лабынкыр получено 16 образцов, для оз. Ворота 6 образцов. Таксономическая структура сообществ исследована с использованием метода высокопроизводительного секвенирования V3-V4 фрагментов гена 16S рРНК.

В результате получено 736 тыс. чтений, которые были объединены в 2014 ОТЕ для образцов из оз. Лабынкыр и 258 тыс. чтений и 1353 ОТЕ для оз. Ворота. Индексы Chao1 и Shannon в оз. Лабынкыр варьировали от 368,5 до 1236,3 и от 1,71 до 4,83; в оз. Ворота от 272,9 до 1018 и от 2,76 до 5,54 соответственно. Суммарно наибольшие доли в сообществах оз. Лабынкыр составляли *Betaproteobacteria* (31,5%), *Actinobacteria* (19,5%), *Alphaproteobacteria* (13,1%) и *Planctomycetes* (11%). Одними из многочисленных ОТЕ были представители родов *Paucibacter*, *Polynucleobacter*, *Janthinobacterium*, *Synechococcus*, *Sphingomonas*, а также *Methylobacterium*. В составе сообществ оз. Ворота доминировали *Betaproteobacteria* (23,5%), *Cyanobacteria* (20,8%) и *Actinobacteria* (18,8%). Среди ОТЕ наиболее многочисленными были *Cyanobacterium*, *Janthinobacterium*, *Polynucleobacter*. В образце поверхностного осадка наибольшие доли составляли *Cyanobacteria* (16,3%), неклассифицированные бактерии (14,4%) и *Deltaproteobacteria* (12,9%). К наиболее многочисленным ОТЕ относились представители родов *Cyanobacterium*, *Cyanobium* и *Synechococcus*. Полученные данные позволили впервые охарактеризовать бактериальные сообщества уникальных труднодоступных озер Якутии и расширить знания о структуре и биоразнообразии микроорганизмов, обитающих в экстремально холодных условиях среды.

Авторы выражают благодарность А.А. Долженкову за содействие в проведении полевых работ. Работа выполнена в рамках проектов ФАНО «Исследование эволюционных экологических, молекулярно-биологических аспектов..» 0345–2019–0001 и «Фундаментальные и прикладные аспекты изучения разнообразия..» (AAAA-A17-117020110056-0).



НОВЫЙ ТРАНСКРИПЦИОННЫЙ ФАКТОР КОНТРОЛИРУЮЩИЙ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СТЕРОИДНОГО КАТАБОЛИЗМА У АКТИНОБАКТЕРИЙ

Брагин Е.Ю., Щелкунов М.И., Штратникова В.Ю., Довбня Д.В., Донова М.В.

Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН

Стероидный катаболизм у актинобактерий – сложный, многоступенчатый процесс. Его интенсивное изучение связано с активным применением стерин-трансформирующих актинобактерий в биотехнологии. Известны десятки генов катаболизма стерина и два основных транскрипционных фактора, контролирующих их экспрессию - KstR1 и KstR2. Данная работа посвящена выявлению новых транскрипционных факторов, регулирующих стерин-индуцируемые гены и участвующих в стероидном катаболизме.

Культуры *Mycobacterium* sp. VKM Ac-1817D и *Mycobacterium neoaurum* VKM Ac-1815D индуцировали 12 мМ фитостерина. РНК выделяли с помощью Qiagen RNeasy mini kit. Секвенирование РНК проводили на секвенаторе HiSeq 2000 (Illumina, USA). Поиск сайтов связывания транскрипционных факторов осуществляли с помощью программ MEME 4.10 и UGENE.

С помощью высокопроизводительного секвенирования РНК было выявлено 260 стерин-индуцируемых генов у штамма 1817D и 268 – у 1815D. Установлены стерин-индуцируемые гены 1817D, которые не контролировались ни одним из известных регуляторов экспрессии. В участках, прилегающих к старт-кодонам таких генов, провели поиск часто встречающихся палиндромных последовательностей, которые могут выполнять роль сайтов связывания транскрипционных факторов. Обнаружена нуклеотидная последовательность (motif_X), сходная с сайтом связывания транскрипционного фактора Rv0767c у *M. tuberculosis*. Ортологом Rv0767c у штамма 1817 является транскрипционный фактор семейства TetR G155_05115, предположительно связывающийся с motif_X и названный нами KstR4.

У штамма 1817D Мы обнаружили 14 оперонов, предположительно контролируемых KstR4, гены 12 таких оперонов оказались стерин-индуцируемыми. У штамма 1815D также выявлено 14 оперонов, предположительно контролируемых KstR4, однако только 9 из них содержит ортологи генов, контролируемых KstR4 у штамма 1817, 6 из которых оказались стерин-индуцируемыми. Среди генов, контролируемых KstR4, присутствуют гены, схожие с известными генами стероидного катаболизма, в частности гены стероид-изомеразы, нескольких цитохромов P450 и короткоцепочечных дегидрогеназ.

Таким образом, выявлен транскрипционный фактор KstR4, регулирующий гены катаболизма стероидов, предположительно не относящиеся к основному пути утилизации стерина.

Работа поддержана РФФИ (проект №18-14-00361).

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ *E.FAECALIS* В СИМБИОЗЕ С ПРОСТЕЙШИМИ *BLASTOCYSTIS* SPP. *IN VITRO*

Бугеро Н.В., Ильина Н.А.

ФГБОУ ВО «Псковский государственный университет», Псков, rector@pskgu; bugero@mail.ru

Введение и цель работы. Изменение патогенности условно-патогенных энтеробактерий в настоящее время приобретает все большее медико-биологическое значение. Темпы и масштабы превращений бактерий-симбионтов не укладываются в норму реакции фенотипа на изменение условий среды. Все это обуславливает интенсификацию исследований феномена патогенности на молекулярно-генетическом уровне. Относительно недавно «острова» и «островки» патогенности были обнаружены у традиционно условнопатогенных бактерий *E. faecalis* (Бонда-



ренко В.М., Суворов А.Н., 2007). Однако вклад данных механизмов в формировании новых фенотипических вариантов микроорганизмов в протозойно-бактериальных ассоциациях остается не изученным.

В связи с этим целью работы явилось изучение генетических детерминант патогенности бактерий-ассоциантов, инвазированных простейшими *Blastocystis* spp. *in vitro* и определение роли взаимного влияния ассоциативных микросимбионтов на реализацию их патогенных свойств.

Материалы и методы. Молекулярно-генетические исследования проводились с применением полимеразно-цепной реакции (ПЦР). Бактериальную ДНК выделяли из культур, выросших на питательных средах методом аффинной сорбции по методу Boom R. et al. (1988) с использованием гуанидинтиоцианата (GuSCN). Праймеры энтерококков были синтезированы в «ЗАО Синтол» (Москва). Выделение ДНК простейших бластоцист проводили с использованием фенольно-хлороформной методики. В работе использовали праймер к гену *E. faecalis*, определяющим их патогенность: - TCAAGCGCCATCACTAGCAA, AAACCGGCAGTATGTTCCGT для выявления гена *gelE* (желатиназа);

Результаты и обсуждения. Было протестировано 132 штамма *E. faecalis*, выделенных из ассоциаций с *Blastocystis* spp. различной степени вирулентности до и после их совместного культивирования, а также 67 штаммов энтерококков, выделенных из микробных консорциумов, где бластоцисты не являлись участниками микробного сообщества. Для проведения данной серии экспериментов были выделены 2 группы обследованных. 1-ую группу составили штаммы *E. faecalis* (n=132), выделенные у обследуемых, в ассоциативном симбиозе, которого участвовали бластоцисты с различной степенью вирулентности. 2-ую группу – штаммы, выделенных из консорциумов, где простейшие не являлись участниками микробного сообщества (n=67).

Выводы. Исследования показали, что при сокультивировании *E. faecalis* с вирулентными бластоцистами происходило увеличение количества штаммов бактерий-ассоциантов с наличием гена желатиназы, особенно значительным оно было после сокультивирования с высоковирулентными бластоцистами. На основании полученных данных можно сделать вывод о том, наличие гена *gelE* (желатиназы) у бактерий энтерококков являлось одним из факторов, обеспечивающих выживание бактерий как в условиях макроорганизма, так и на искусственной питательной среде в консорциуме с бластоцистами. По нашему мнению, это может свидетельствовать о резкой мобилизации защитных механизмов в ответ на действие запредельного фактора, проявляющихся в увеличении числа особей, содержащих в своем генотипе фрагменты изучаемого гена *gelE* и его фенотипической экспрессии.

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА МИКРОБНОЙ ПОПУЛЯЦИИ РЕАКТОРОВ БИООКИСЛЕНИЯ СУЛЬФИДНОГО КОНЦЕНТРАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ПРОЦЕССА

Булаев А.Г.

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»,
bulaev.inmi@yandex.ru

Биоокисление, основанное на деструкции сульфидных минералов микроорганизмами, окисляющими двухвалентное железо и серу, успешно используется для переработки золотосодержащих концентратов. Понимание связей между составом микробных популяций и эффективностью процессов позволит разработать практические подходы, позволяющие управлять эффективностью процесса. Целью работы было исследование микробных популяций, сформировавшихся в процессах биоокисления сульфидного пирит-арсенопиритного концентрата, содержащего 62 г/т золота. Биоокисление проводили в непрерывном режиме при 40 и 45°C. При 45°C исследовали влияние источников углерода на эффективность процесса, добавляя в пульпу 0.02% мелассы или осуществляя подачу CO₂. Состав популяций определяли с помощью высокопроизводительного секвенирования переменных участков генов 16S рРНК V3 и V4. При



проведении процесса биоокисления при 40°C удалось поднять извлечение золота с 43 до 93%. При этом в популяции преобладали бактерии *Leptospirillum* sp. (78%) и *Acidithiobacillus caldus* (15%), бактерии *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* и археи *Acidiplasma* spp. и *Ferroplasma* spp. составляли минорную часть популяции. Биоокисление при 45°C в контрольном эксперименте, а также при использовании мелассы и CO₂ позволило повысить извлечение золота до 73, 81 и 84% соответственно. При 45°C бактерии *Leptospirillum* sp. в популяциях практически не детектировались. В контрольном эксперименте при 45°C в популяции преобладали *Acidithiobacillus caldus* (35%) и археи *Acidiplasma* spp. (59%). Добавление мелассы привело к увеличению доли *Acidiplasma* spp. до 70%, кроме того были значительными доли *Acidithiobacillus caldus* (18%) и *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* (11%). При подаче CO₂ в пульпу доля *Sulfobacillus thermosulfidooxidans* возросла до 31%, тогда как доли *Acidiplasma* spp. и *Acidithiobacillus caldus* составляли 38 и 27% соответственно. Полученные результаты позволяют заключить, что причины зависимости эффективности биоокисления сульфидного концентрата от температуры и источников углерода заключаются в изменении микробных популяций.

АНТИМИКРОБНЫЕ АГЕНТЫ: ПОТЕНЦИАЛ ЭФИРНОГО МАСЛА ТИМЬЯНА ОБЫКНОВЕННОГО В КАЧЕСТВЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОГО БИОЦИДА

Ванькова А.А., Маланкина Е.Л., Жаркова Е.К.

Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева, Москва, ekzharkova.tsha@yandex.ru

Полирезистентность микроорганизмов к существующим антибиотикам вызывает необходимость поиска новых противомикробных средств. Эфирные масла – летучие вторичные метаболиты растений обладают высокой антимикробной активностью и являются перспективными аналогами высокотоксичных антибиотиков и химических средств защиты растений.

Объектами исследования являлись штаммы микроорганизмов, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) и коллекции кафедры защиты растений РГАУ-МСХА (*Bacillus subtilis* B-5251, *B. licheniformis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* M-17, *Enterobacter cloacae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* TCXA-4, *Bipolaris sorokiniana*, *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*), и ЭМ тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.). ЭМ получено методом гидродистилляции (ГФ XIV, метод 1) из свежего сырья, собранного в фазу массового цветения. Суммарное содержание основных антимикробных веществ – карвакрола и тимола составляло 65% от суммы компонентов, коэффициент рефракции $n=1,5035$, что свидетельствует о соответствии качества тестируемого ЭМ стандартам Ph Eur.

Антимикробную активность определяли дисковым методом, минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) – микропланшетным методом. Контролями служили стерильная вода и препарат для защиты растений «Фитолавин» (комплекс стрептотрициновых антибиотиков).

Все тестируемые микроорганизмы проявили чувствительность к ЭМ тимьяна обыкновенного, за исключением бактерии *P. aeruginosa*. Антимикробная активность ЭМ вдвое превышала действие «Фитолавина». Диаметр зон подавления роста бактерий составлял 18,1-27,4мм в зависимости от вида при МИК 2,5-5мл/л, дрожжей – 25,0-26,1мм при МИК 2,5мл/л, мицелиальных грибов – 39,1-41,2мм при МИК 2,5мл/л. Корреляционный анализ выявил тесную обратную связь между размером зоны подавления и МИК ($r=-0,87$).

Результаты опыта подтверждают перспективность использования ЭМ *T. vulgaris* в качестве экологически безопасного биоцида в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве и пищевой промышленности.



ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОКАРИОТНОГО СООБЩЕСТВА ЧЕРНОЗЕМА ПРИ ПОВЫШЕННОМ СОДЕРЖАНИИ ХЛОРИДОВ И НИТРАТОВ

Власова А.П.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения,
Москва, anastasya.nast-vlasova@yandex.ru

Введение. На кафедре агрохимии факультета почвоведения активно исследуется вопрос о совместном действии основных форм удобрений на биологическую активность систем. Так, был обнаружен интересный эффект: внесение хлорида калия совместно с азотно-фосфорным удобрением в почву сопровождается снижением поступления в растения азота и фосфора, что отрицательно сказывается на урожайности культур.

Цель и задачи исследования. Цель работы: оценка структуры прокариотного сообщества чернозема обыкновенного при повышенном содержании хлоридов и нитратов в почве.

Задачи исследования: оценить динамику эмиссии диоксида углерода из чернозема при внесении хлоридов и нитратов, изучить влияние присутствия хлоридов и нитратов на биомассу прокариотного сообщества, определение структуры прокариотного комплекса в, выявление филумов бактерий и архей, чувствительных или устойчивых к повышенной концентрации хлоридов и нитратов в почве.

Объекты и методы. Объектами исследования были образцы почв чернозема обыкновенного, на котором проводился опыт по внесению минеральных удобрений: нитрата аммония, двойного суперфосфата и хлорида калия в различных концентрациях.

Методы: газовая хроматография, метод FISH, real time PCR.

Результаты и обсуждение. Выявлено изменение динамики дыхания почвенных микроорганизмов при внесении нитрат и хлорид-содержащих минеральных удобрений: применение хлорида калия в качестве удобрения подавляет микробиологическое дыхание.

Среди представителей домена Bacteria практически все филогенетические группы, кроме *Alphaproteobacteria* и *Verrucomicrobia* оказались чувствительными к рассматриваемым видам удобрений. Для домена Archaea представители филумов *Euryarchaeota*, *Crenarchaeota* и *Thaumarchaeota* являются устойчивыми присутствию хлоридов и совместному присутствию хлоридов и нитратов

Показано, что представители рода *Streptomyces* и *Micromonospora* являются чувствительными к хлоридам и совместному присутствию хлоридов и нитратов.

Вывод. Внесение минеральных удобрений, даже в малых дозах, значительно изменяет структуру биологически активного микробного комплекса.

НОВАЯ МОДЕЛЬ ОЦЕНКИ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКТОБАЦИЛЛ IN VIVO В DROSOPHILA MELANOGASTER

Волкова А.С., Арзамасцева А.А., Костенко В.В., Яруллина Д.Р., Каюмов А.Р.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
volkov-alisa@yandex.ru

Антагонистическая активность лактобацилл определяет их широкое применение в медицине, пищевой отрасли и сельском хозяйстве, поэтому ее исследование является актуальной задачей. Благодаря простоте манипуляций, генетической изученности и известному составу микробиоты, *Drosophila melanogaster* представляет собой удобную модель для решения этой задачи.

Цель работы: разработка новой модели для исследования антагонистической активности лактобацилл в системе *in vivo* на модели *D. melanogaster*.

Работа выполнена на линии *D. melanogaster* дикого типа Oregon (OR). При оценке антагани-



стической активности *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 в качестве патогенных тест-микроорганизмов использовали *Staphylococcus aureus subsp. aureus* ATCC 29213, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Klebsiella pneumoniae* (клинический изолят). Личинки *D. melanogaster*, полученные из синхронизированных кладок, помещали на среду, в которую вносили лактобациллы и штаммы патогенов в соотношении 1:1 вместе с дрожжевой эмульсией в концентрации 10⁸ кл/мл. Оценивали основные параметры приспособленности мух: эмбриональное развитие, количество особей каждой личиночной стадии, формирование куколок и число жизнеспособных половозрелых имаго. Состав кишечной микробиоты оценивали методами классической микробиологии.

Показали, что инфицирование мух патогенными бактериями приводило к снижению численности жизнеспособных особей на 72-87% в течение всего предимагинального периода по сравнению с контрольной группой, развивающейся на среде без добавок. Внесение *L. plantarum* в комбинации с исследуемыми патогенами способствовало увеличению числа жизнеспособных особей на 73-79% в сравнении с инфицированной группой, что обуславливалось снижением летальных эффектов на эмбриональной стадии и на стадии куколки.

Таким образом, на модели *D. melanogaster* получены свидетельства наличия у *L. plantarum* 8P-A3 антагонистической активности в отношении исследуемых патогенных бактерий, что подтверждает пригодность использования данной модели.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект РФФИ-17-00-00456).

ФРАКТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С СИМБИОТИЧЕСКИМИ БАКТЕРИЯМИ ПРЕПАРАТА АГРОФИЛ

Воробьев Н. И.¹, Носевич М.А.², Пухальский Я.В.^{1,3}, Лоскутов С.И.³, Шапошников А.И.¹, Свиридова О.В.¹, Пищик В.Н.^{2,4}

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Пушкин

² ФГБОУ ВО СПбГАУ, Санкт-Петербург, Пушкин

³ ООО НПО «БиоЭкоТех», Санкт-Петербург

⁴ ФГБНУ АФИ, Санкт-Петербург, Пушкин

Ключевые слова: фрактальный портрет растительной экссудации экзометаболитов, фрактальный индекс экссудации аминокислот.

Растения в процессе онтогенеза выделяют экзометаболиты для взаимодействия с почвенными бактериями. Фрактальный анализ состава аминокислот позволяет оценить уровень взаимодействия растений с бактериями.

Цель исследования – оценка симбиотического потенциала сортов растений льна-долгунца по данным опыта с применением препарата Агрофил и оригинального анализа фрактальных портретов экзометаболитов.

Построены фрактальные портреты экссудации для сортов льна-долгунца в присутствии/отсутствии бактерий *Azotobacter* и определена корреляция фрактальных индексов экссудации с биомассой растений.

Сорта льна-долгунца с большим индексом экссудации обладают большей биомассой. При действии бактерий индекс экссудации снижается, а биомасса возрастает, что указывает на эффективность взаимодействия.



ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОФИЛЕЙ БАКТЕРИЙ ПРИ ПОМОЩИ РЕГИСТРАЦИИ ИХ РЕСПИРАТОРНОЙ АКТИВНОСТИ *IN VIVO*

Гайсина Д.Ф.¹, Ильясов П.В.², Макурина О.Н.¹

¹ФГАОУ ВО «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева», Самара, ssau@ssau.ru

²Самарский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», Самара, samara@ficvim.ru

Перспективным направлением бактериологической диагностики является разработка метода идентификации бактерий на основе регистрации их респираторной активности (РА) при трансформации субстратов. Такой подход используется при разработке биосенсоров.

Целью исследования явилось получение профилей РА бактерий в ответ на панель субстратов. В качестве модельных бактерий использовали культуры из коллекции микроорганизмов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (г. Покров, РФ): *E. coli* CN160, *E. coli* №720, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* 18/11, *Enterobacter cloacae*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* 6538-Р ATCC и *P. aeruginosa*. Клетки выращивали на ГРМ-агаре, адсорбировали на фильтрах Whatman™ GF/A, фиксировали на кислородном электроде и регистрировали сигналы электрода при внесении субстратов. Субстратная панель включала глюкозу, лактозу, маннит, сахарозу, арабинозу, рамнозу, раффинозу, мочевины, цитрат и тиосульфат натрия.

В ходе работы получены профили РА микроорганизмов. Корреляционный анализ позволил разделить культуры на 2 группы со сходными профилями штаммов (коэффициенты корреляции > 0.95) внутри групп. Группа 1 включала большинство протестированных энтеробактерий, а группа 2 - грамположительные кокки и *P. vulgaris*. *E. cloacae* и *P. aeruginosa* 273 не вошли ни в одну из этих групп из-за индивидуальных особенностей их профилей.

Дальнейшие исследования будут направлены на оптимизацию панели субстратов с целью получения полноценной информации о метаболических характеристиках микроорганизма и его однозначной идентификации.

Исследования выполнены при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (Фонда содействия инновациям).

НОВЫЕ *PENICILLIUM* ОБРАЗУЮТ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ВЕЗИКУЛЫ В ОТВЕТ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕДИ

Глухова Л.Б., Франк Ю.А., Карначук О.В.

Лаборатория биохимии и молекулярной биологии, Томский государственный университет, glb122@yandex.ru, glb122@yandex.ru

Механизмы устойчивости к меди у микромицетов изучены недостаточно. Ранее нами были выделены и описаны как новые виды два ацидотолерантных представителя рода *Penicillium* способных расти при концентрации меди в среде до 3 г/л (Glukhova et al., 2018). Одним из возможных механизмов устойчивости мы предположили выведение меди из клетки в виде внеклеточных везикул, так как оба изолята формировали сферические образования на поверхности мицелия размером от 0.12 до 4 мкм. Целью настоящего исследования была разработка методики выделения везикул из *Penicillium metallidurans* ShG4C и измерение в них концентрации Cu.

В экспериментах по получению везикул микромицеты выращивали на модифицированной среде Чапека (в г/л: глюкоза - 30, дрожжевой автолизат - 40, NaNO₃ - 3, K₂HPO₄ - 1, MgSO₄•7H₂O - 0.5, KCl - 0.5; FeSO₄•7H₂O - 0.01). pH среды снижали до 2.5 с использовани-



ем серной кислоты. Медь вносили в виде $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, таким образом, что конечная концентрация Cu^{2+} в среде составляла 3 г/л. Эксперименты проводили с краткосрочной (20 суток) и длительной (220 суток) инкубацией. Фракцию везикул получали путем ультрацентрифугирования супернатанта (100,000 g в течение 1 часа) на холоде из культуры клеток *P. metallidurans* ShG4C. Изучение ультраструктуры везикул проводили на сканирующем электронном микроскопе Philips SEM 515, совмещенном с EDXA (напряжение ускорения 30 кВ, фокусное расстояние 12 мм, размер зонда 50-100 нм²). Для этого полученные везикулы фиксировали в параформальдегиде и серийно обезживали в спирте (50-80-96%) с промежуточным центрифугированием при 100,000 g.

Средний размер везикул составлял 1 мкм, что позволило классифицировать их как «крупные», поскольку по литературным данным размер внеклеточных везикул у микромицетов варьирует в диапазоне от 10 до 1000 нм. Медь присутствовала в везикулах в концентрации от 0.17 до 2.79 вес. %. Наряду с медью везикулы содержали фосфор и железо, что может быть свидетельством осаждения фосфата железа вследствие использования фосфат-содержащего буфера PBS для промывки. Таким образом, наши исследования свидетельствуют в пользу того факта, что устойчивые *Penicillium* могут выводить медь путем образования внеклеточных везикул.

Исследования поддержаны грантом РФФИ № 18-34-00510.

ВАЖНАЯ РОЛЬ О-АНТИГЕНА БАКТЕРИЙ-ХОЗЯЕВ ДЛЯ КУЛЬТИВАЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ

Голомидова А. К.¹, Куликов Е. Е.¹, Летаров А. В.¹

¹ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, лаборатория вирусов микроорганизмов, Москва, alla_golomidova@mail.ru

Введение. В последнее десятилетие во всем мире отмечается существенный рост интереса к бактериофагам как к профилактическим и терапевтическим препаратам. Это обстоятельство вызвано неуклонно растущей устойчивостью бактерий к антибиотикам. В условиях глобальной антибиотикорезистентности бактериофаги могут быть эффективными средствами для лечения и профилактики многих бактериальных инфекций.

Цель работы. Для того, чтобы достичь максимального эффекта от фаговых препаратов, необходимо учитывать ряд условий при выборе и подготовке бактериофагов. Одним из таких условий является культивирование бактериофагов на природных изолятах бактерий, выделенных из окружающей среды с поверхностными полисахаридами (О- и К-антигены), играющими ключевую роль в физиологии бактерий, их взаимодействии друг с другом, бактериофагами, иммунной системой человека и животных.

Материалы и методы. В исследовании были использованы классические методы микробиологии, полногеномное секвенирование ДНК фагов, выделение ЛПС методом ферментативного гидролиза и оценка электрофоретической подвижности проводили в 12% ПААГ в денатурирующих условиях с окраской геля серебром.

Результаты и обсуждение. Было показано, что культивирование бактериофагов на лабораторных штаммах бактерий, лишённых поверхностных полисахаридов (О- и К-антигены), приводит к возникновению мутаций, в результате чего, часть белков адсорбционного аппарата бактериофагов теряют свою функциональность и способность инфицировать природные штаммы с поверхностными полисахаридами.

Выводы. Основным заключением работы является рекомендация по культивированию бактериофагов исключительно на штаммах с поверхностными полисахаридами, как при фундаментальных исследованиях биологии бактериофагов так и при промышленном культивировании терапевтических фаговых коктейлей.

Работа поддержана грантом РФФИ №15-15-00134



ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ПЛАНКТОМИЦЕТОВ ИЗ КЛАССА *Phycisphaerae* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГЕНОМИКИ

Ельченинов А.Г.¹, Тощакон С.В.¹, Бонч-Осмоловская Е.А.¹, Кубланов И.В.¹

Институт Микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Введение. Класс *Phycisphaerae* является одной из филогенетических групп, входящих в филум *Planctomycetes*. На данный момент в нем описаны лишь 4 рода: *Algisphaera*, *Tepidisphaera* и *Sedimentisphaera*. Все культивируемые представители являются полисахаридолитиками, получающими энергию за счет аэробного дыхания и/или брожения. Однако генетические детерминанты этих метаболических процессов еще не охарактеризованы.

Цели. Целью данной работы является реконструкция метаболических путей, а также анализ филогенетического и экологического разнообразия культивируемых и некультивируемых представителей *Phycisphaerae* с использованием сравнительной геномики.

Методы. Была секвенирована и собрана в хромосому геномная последовательность *Tepidisphaera mucosa*. Из базы данных IMG были дополнительно получены все неклассифицированные геномы планктомицетов и геномы, отнесенные к *Phycisphaerae*, и проверены на полноту с использованием *CheckM*. Почти полные (полнота >80%) геномы были использованы для проведения филогенетического анализа, основанного на последовательностях консервативных однокопийных белков, с целью определения геномов «истинных» *Phycisphaerae*. Окончательный набор геномов был проанализирован с использованием инструментов *IMG*, *dbCAN*, *UniProt* для поиска целевых генов.

Результаты. Основываясь на филогенетическом анализе 22 выбранных генома *Phycisphaerae* можно разделить на 4 группы, распределение по которым коррелирует с особенностями их местообитаний и метаболическими свойствами. Для всех организмов предсказан высокий гидролитический потенциал за счет наличия многочисленных генов *CAZymes* – до нескольких сотен генов в одном геноме. У всех групп были обнаружены гены, кодирующие ферменты гликолиза, пентозо-фосфатного пути, полного/частичного ЦТК и различных типов брожения. Однако гены комплексов дыхательной ЭТЦ были обнаружены лишь в двух группах из четырех, т.е. некоторые группы, потерявшие генетические детерминанты аэробного дыхания и, частично, ЦТК, являются облигатными бродильщиками.

Заключение. Таким образом, класс *Phycisphaerae* представлен микроорганизмами, которые попадают в несколько филогенетических групп (порядков) и сильно отличаются друг от друга по распространению в различных экосистемах и по метаболическим свойствам.

Работа была поддержана грантом РФ 17-74-30025.

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ ШТАММА *BACILLUS LICHENIFORMIS*, ВЫДЕЛЕННОГО НА БОРТУ МЕЖДУНАРОДНОЙ КОСМИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

Еникеев Р., Захарчук Л.М., Татаринова Н.Ю., Алехова Т.А.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Москва, radmir.yenikeev@gmail.com

Введение. Российский сегмент Международной космической станции (РС МКС), представляет собой замкнутое пространство, характеризующееся повышенной влажностью, постоянной температурой, наличием доступных субстратов и поэтому является благоприятной средой для развития микроорганизмов. Различные их виды на борту МКС могут нарушать работу систем жизнеобеспечения, представлять опасность для здоровья космонавтов и вызывать коррозию оборудования. Показано, что на МКС, наряду с многочисленными видами грибов, встречаются и бактерии разных систематических групп. Особенную опасность представляют спорообразую-



щие бактерии, которые могут долгое время выживать в окружающей среде при низком содержании влаги и питательных веществ. Так возбудителями отитов, инфекций мочеполовой сферы, гастритов, острых респираторных инфекций, аллергических реакции и дерматитов могут являться *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*.

Цель работы. Изучение устойчивости штамма *B. licheniformis* 7-12, выделенного из образцов, полученных на РС МКС, к различным группам антибиотиков.

Материалы и методы. Определение минимальной ингибирующей концентрации антибиотиков выполняли в 96-луночном планшете методом последовательных разведений. В первую лунку вносили антибиотик в концентрации 4096 мкг/мл с последующим двукратным разведением до концентрации 1 мкг/мл. В работе использовали среду МПБ, визуализацию результатов выполняли, добавляя в лунки резазурин. В качестве референтного штамма использовали *B. licheniformis* КМ МГУ 14.

Результаты. Выявленные минимальные ингибирующие концентрации антибиотиков, для изучаемого и референтного штаммов *B. licheniformis* соответственно, составляют (мкг/мл): бензилпенициллин – 2048 и 256; ампициллин – 2048 и 512; оксиклилин – 512 и 1; цефепим (цефалоспорины 4-го поколения) – 256 и 1; лемоксол (цефалоспорины 3-го поколения) – 64 и 1; цефазолин (цефалоспорины 1-го поколения) – 1024 и 1; цефобид (цефалоспорины 3-го поколения) – 512 и 4.

Выводы. Установлено, что штамм *B. licheniformis* 7-12, выделенный из РС МКС, обладает очень высокой степенью устойчивости ко всем исследованным антибиотикам по сравнению с референтным штаммом, что говорит о его значительной потенциальной опасности для здоровья космонавтов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ БАКТЕРИОФАГОВ С ХОЗЯИНОМ

Ждид Гадир, Шах Махмуд Раихан

Бактериофаги являются наиболее распространенным существом, способным размножаться в мире. Они заражают бактерии и известны своей специфичностью, что делает их хорошей альтернативой антибиотикам, с другой стороны, бактериофаг имеет некоторые недостатки, что приводит к экономическим потерям в некоторых отраслях, таких как молочные растения. Целью исследования было изучение влияния ферментов, расщепляющих прокариотические и эукариотические нуклеиновые кислоты, на заражение бактериями *Bacillus* бактериофагом MSRT01f.

Использовали ранее выделенные в отделе микробиологии бактериофаг MSRT01f, MGS *B. subtilis*, MGS *Bacillus safensis*, MGS *Bacillus altitudinis* и AS *Bacillus licheniformis*, а также бактериальную внеклеточную РНКазную биназу. Кроме того, использовались коммерческие эукариотические ферменты: ДНКазы I, РНКазы А и ингибитор РНКазы Риболок. Для выявления титра бактериофага был использован метод Гарсии.

Мы обнаружили, что MSRT01f заражает *B. subtilis* и *B. licheniformis* и что он не влияет на *B. safensis* и *B. altitudinis*.

Кроме того, мы обнаружили, что 100 мкг / мл РНКазы А, биназы, ДНКазы I, обладает противовирусным действием, снижая титр вируса на 90%, 50%, 40% соответственно. Риболок снижает эффект РНКазы А на 53%, а комплекс Риболок-РНКазы А снижает титр вируса на 37%.

Таким образом, исследование установило, что бактериофаг MSRT01f имеет узкий диапазон хозяев и что на него влияют ДНКазы и РНКазы из прокариотического и эукариотического происхождения.

Бактериофаг может быть использован в качестве потенциального агента биоконтроля против *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis*. Альтернативно, отрицательный эффект, вызванный вышеуказанным бактериофагом, может быть уменьшен с использованием РНКазы А, биназы и в меньшей степени ДНКазы I.



СЕЗОННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ

Железова А.Д.^{1*}, Чернов Т.И.¹, Тхакахова А.К.¹, Ксенофонтова Н.А.^{1,2}, Никитин Д.А.¹,
Семенов М.В.¹, Иванова Е.А.¹, Кутова О.В.¹

¹Почвенный институт им. В.В. Докучаева

²МГУ им. М.В. Ломоносова
alferrum@mail.ru

Введение: Микробное сообщество - динамичный пул в составе органического вещества почвы, быстро реагирующий на изменения экологических факторов. В дерново-подзолистых почвах наблюдаются заметные сезонные изменения температуры и влажности, что приводит к изменениям активности почвенной микробиоты.

Цель работы: анализ сезонной динамики микробного сообщества залежной дерново-подзолистой почвы и оценка влияния температуры и влажности почвы на биомассу и обилие отдельных таксономических групп.

Материалы и методы: Были исследованы почвы залежи, находящейся на территории стационара «Ельдирино», Московская область. Почву отбирали ежемесячно с марта 2017 по февраль 2018 с трех глубин: 10 см (горизонт Р), 35 см (горизонт ВЕL) и 55 см (горизонт ВТ2). Методом люминесцентной микроскопии оценивали биомассу одноклеточных прокариот, актиномицетов и грибов. Оценка обилия (количества копий рибосомальных генов) бактерий, архей и грибов проводили с помощью количественной ПЦР в препаратах экстрагированной ДНК и РНК после обратной транскрипции. Одновременно оценивали влажность и температуру почвы.

Результаты и обсуждение: В течение года микробная биомасса изменялась в 2-6 раз, наибольшее варьирование было выявлено в верхнем горизонте почвы. Биомасса грибов была максимальна в июле и сентябре, биомасса прокариот – в августе и сентябре. В период с ноября по март биомасса всех исследованных групп микроорганизмов была минимальной. Значимое влияние на показатели микробной биомассы оказывали факторы температуры и глубины отбора образца. Количество копий рибосомальных генов бактерий, архей и грибов в препаратах ДНК в горизонте Р в период с марта по сентябрь варьировало незначительно, в период с октября-ноября по февраль эти показатели снижались на 3-4 порядка. Схожие паттерны наблюдались для количества копий генов в препаратах РНК после обратной транскрипции.

Закключение: Были выявлены основные тренды сезонной динамики микробного сообщества в дерново-подзолистой почве. Полученные результаты могут быть использованы при сравнении численности микроорганизмов в образцах, отобранных в разные сроки.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда, проект № 17-16-01057.

ЭКОЛОГИЯ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПРЕСНЫХ ОЗЕР БУРЯТИИ

Зайцева С.В., Цыденова Б.В., Дагурова О.П., Козырева Л.П., Бурюхаев С.П., Дамбаев В.Б.

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ

Пресные озера являются важным объектом сохранения разнообразия и сохранения качества пресной воды. Постоянно нарастающая антропогенная нагрузка может приводить к негативным изменениям водных систем. Объектами исследования выбраны крупные пресные озера Республики Бурятия, имеющие водохозяйственное и рекреационное значение – Байкал, Гусиное, Котокель и Щучье. Цель работы – определить разнообразие бактериопланктона пресных озер Бурятии и выявить основные факторы, влияющие на распределение микроорганизмов.



Пробы воды были отобраны в августе 2018 г. Структура сообщества бактериопланктона определена методом высокопроизводительного секвенирования в трех технических повторностях.

Микробное сообщество воды исследованных озер было достаточно разнообразным. На уровне филумов доминировали представители *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Cyanobacteria*, *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes*, что характерно для пресных водоемов. Структура сообществ бактериопланктона озер Гусиное и Котокель характеризовалась доминированием двух классов – *Bacteroidia* и *Gammaproteobacteria*. Класс *Bacteroidia* по числу видов был наиболее разнообразен. В озере Котокель *Gammaproteobacteria* занимали 60% от общего разнообразия и характеризовались преобладанием представителей двух родов: *Acinetobacter* (до 50%) и *Pseudomonas*. Класс *Actinobacteria* составляли >20% в составе бактериопланктона оз. Щучье и литоральных участков оз. Байкал. Снижение общего микробного разнообразия и доминирование небольшого числа родов может служить индикатором нестабильного функционирования экосистемы и свидетельствовать о возможном изменении структуры сообщества при антропогенной нагрузке. Выявлены схемы распространения доминирующих таксонов в пресноводных микробных сообществах.

Работа выполнена в рамках реализации базового проекта ФАНО «Микробные сообщества экстремальных природных систем: биологическое и функциональное разнообразие, биотехнологический потенциал» № АААА-А17-117011810034-9 и при поддержке гранта РФФИ № 18-44-030028.

НОВЫЕ ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНЫЕ АКТИНОБАКТЕРИИ-ГИДРОЛИТИКИ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ СОДОВЫХ СОЛОНЧАКОВ ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ

Захарычева А.П.^{1*}, Евтушенко Л.И.², Кубланов И.В.³, Хижняк Т.В.³

¹-Московский Государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Москва

²- Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино

³-Институт микробиологии им.С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
*alice-keytown@ya.ru

Филум *Actinobacteria* - крупнейшая таксономическая единица домена Bacteria. Большинство актинобактерий - свободноживущие организмы, которые широко распространены как в наземных, так и в водных экосистемах. Они более многочисленны в почвах, чем в других местообитаниях, где составляют важную часть микробного населения, и представляют большой интерес в биотехнологии как источники новых антибиотиков и ферментов, что обуславливает актуальность данной работы.

Целью работы стало получение фенотипических и филогенетических характеристик 2-х новых штаммов галоалкалофильных актиномицетов, выделенных их почв Центральной Азии в рамках скрининга на галоалкалотолерантные гидролитические бактерии.

При выращивании на твердой среде АСПА22 образует только воздушный белый преимущественно прямой мицелий, который фрагментируется на конидии. Напротив, АСПА39 в основном растет в виде коричневого субстратного мицелия и образует спорангии с 3-4 угловатыми спорами. Оба штамма имеют пептидогликан типа 1 и МК-10 (H4) в качестве доминирующего хинона. АСПА22 имеет в составе клеточной стенки глюкозу, рибозу, галактозу и маннозу, штамм АСПА39 – галактозу и ксилозу. В результате секвенирования гена 16S рРНК, АСПА22 образует новую ветвь на уровне рода в семействе Glycomycetacea (92% сходства с родом *Haloglycomyces*), штамм АСПА39 представляет нового члена семейства Micromonosporaceae (94% сходства с родом *Salinispora*). Оба организма - строгие аэробы-органогетеротрофы, растущие либо с различными сахарами и полимерами в качестве источника углерода и энергии, либо на богатых сложных средах. Характерное отличие от родственных видов у обоих штаммов – рост на широ-



ком спектре природных полимеров (инулин, пектин, маннан, гликоманнан, лихенан, ламинарин, гликоген). Штамм АСРА39 также использует галактан, арабинан, ксилотрикан, ксилан. Оба штамма имеют низкий солевой оптимум для роста, но могут переносить до 3 М Na⁺. АСРА22 рос в широком диапазоне pH от 6,5 до 10,5, оптимум при 7,3-9,0 (факультативный алкалофил), в то время как АСРА39 является облигатным алкалофилом с более узким диапазоном pH от 7,5 до 10,3 (с оптимумом 8,5).

На основании фенотипических и филогенетических особенностей два актинобактериальных штамма из содовых солончаковых почв описаны как два новых рода и вида: *Natronoglycomyces alba* gen. nov., sp. nov. (АСРА22Т) и *Natronosporangium hydrolyticum* gen. nov., sp. nov. (АСРА39Т).

Работа выполнена в рамках гранта РФФИ №16-14-00121.

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ И ГЕНОТИПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НОВОЙ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНОЙ БАКТЕРИИ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ХОЛОДНОГО ИСТОЧНИКА

Захарюк А.Г., Щербакова В.А.

ФИЦ ПНЦБИ РАН Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им Г.К. Скрыбина РАН,
Московская область, Пущино, kuran82@mail.ru

Психрофильные микроорганизмы – это экстремофилы, способные расти и размножаться при низких температурах. Они обитают в глубинах морей и океанов, почвах и льдах Арктики и Антарктики, на больших высотах в горах. Известные психрофильные бактерии принадлежат к α - и γ -*Proteobacteria*, классу *Bacteroidia* и филуму *Firmicutes*. Холодоустойчивые микроорганизмы представляют огромный интерес для биотехнологии и молекулярной биологии в качестве агентов, продуцирующих холодоактивные ферменты. Целью исследования было выделение и описание психрофильных анаэробных микроорганизмов, осуществляющих деструкцию органического вещества в донных осадках холодного минерального источника Буксыхен (Бурятия, Россия). В работе использовались методы анаэробного культивирования с применением техники Хангейта, методы полифазной таксономии и молекулярно-генетические методы.

Из накопительной культуры железовосстанавливающих бактерий, полученной из пробы донных осадков источника и инкубируемой при 7°C с цитратом Fe(III) и формиатом, методом селективного посева с антибиотиками, был выделен бактериальный штамм SKBGT. Филогенетический анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК штамма SKBGT показал высокий уровень сходства (>99%) с последовательностями типовых штаммов рода *Trichococcus*, однако dDDH со всеми описанными видами этого рода (29–57%) была ниже 70%, что позволило нам отнести выделенный организм к новому виду рода *Trichococcus*. Клетки штамма SKBGT представляли собой грамположительные кокки, часто соединенные в длинные цепочки. Новый изолят – факультативный анаэроб, нейтрофил, оптимальный рост наблюдался при pH 7.6, оптимум NaCl составил 0–0.1%. Это облигатно психрофильная бактерия с оптимумом роста при 10°C и диапазоном развития при температуре –5–35°C. Штамм использовал моно-, ди- и трисахара, цитрат и пируват в качестве единственного источника углерода и энергии и был не способен к автотрофному росту. Основными жирными кислотами клеточной стенки при оптимальной температуре роста являлись C16:19, C16:0 и C18:19. Содержание G+C пар в геномной ДНК составило 46.7 мол.%. Проведенные нами исследования выявили значительные фенотипические и генотипические отличия выделенного штамма и представителей известных видов рода *Trichococcus*. Все описанные на настоящий момент виды рода *Trichococcus* относятся к психротолерантным мезофилам и способны расти при низких температурах. Однако оптимум температуры для роста у них наблюдали в пределах 25–30°C. Нами впервые выделен и охарактеризован первый облигатно психрофильный представитель рода *Trichococcus*, который мы предлагаем отнести к новому виду данного рода с предложенным названием *Trichococcus psychrophilus* sp. nov. и типовым штаммом SKBGT (=VKM B-3241T=JCM 33326T).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 19-04-00831).



СРАВНИТЕЛЬНАЯ ГЕНОМИКА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *THERMOPILUM*: ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА САХАРОВ И БИОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПУТЕЙ

Заюлина К.С.¹, Пиунова У.Е.², Кочеткова Т.В.¹, Тошаков С.В.¹ и Кубланов И.В.¹

1 - Институт Микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

2 - Факультет Биоинженерии и Биоинформатики, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

Введение. Семейство *Thermofilaceae* является глубокой группой в филуме *Crenarchaeota* и представлена единственным культивируемым родом, включающем в себя 5 изолятов, обладающих уникальным метаболизмом. Все эти виды являются строгими анаэробами, гетеротрофами, способными усваивать различные сложные органические соединения, в том числе полисахариды и сахара. Общая черта всех представителей рода *Thermofilum* заключается в том, что для роста они требуют специфических факторов роста, продуцируемых другими микроорганизмами, обитающими рядом с ними.

Цели. Данное исследование посвящено изучению механизмов разложения полисахаридов, центральному метаболизму сахаров и реконструкции путей биосинтеза кофакторов (или подтверждение их отсутствия) у представителей семейства *Thermofilaceae*.

Методы. Для реконструкции метаболизма представителей *Thermofilaceae* мы проанализировали геномы всех культивируемых видов. Анализ геномов был выполнен с помощью IMG/MER system, баз данных KEGG и MetaCyc, dbCAN, Uniprot сервисов. Ростовые эксперименты для подтверждения ауксотрофного роста были выполнены в оптимальных условиях для каждого штамма *Thermofilum*. Рост на среде с добавлением клеточного фильтрата других кренархей был использован в качестве положительного контроля ростовых экспериментов.

Результаты. Во всех геномах представителей рода *Thermofilum* были обнаружены гены, кодирующие ферменты CAZymes, участвующие в разложении крахмала, глюкоманнана и других полисахаридов. Центральный метаболизм сахаров представлен у всех изолятов гликолизом архейного типа и частичным ЦТК. Для скрининга метаболитов, которые могли бы выступать в роли кофакторов, необходимых для роста *Thermofilum* были проанализированы геномы кренархей, обитающих рядом с *Thermofilum*. Более того, в геномах представителей *Thermofilum* некоторые пути, например, биосинтез аминокислот, пиримидинов, пиридоксаль-5-фосфата и кофермента А были неполными или даже полностью отсутствовали, в то время как в геномах других *Crenarchaeota*, обитающих рядом, были обнаружены все вышеперечисленные пути.

Заключение. Таким образом, были подробно проанализированы геномы представителей семейства *Thermofilaceae*, выявлены детерминанты разложения полисахаридов, центрального метаболизма сахаров и показано отсутствие путей биосинтеза различных метаболитов. Кроме того, в геномах кренархей, обитающих вместе с представителями *Thermofilaceae*, были обнаружены все отсутствующие у тех анаболические пути, что возможно, объясняет значимость данных микроорганизмов для роста и метаболизма представителей рода *Thermofilum*.

Данное исследование поддержано грантом РФФИ # 018-44-04024.



ТАКСОНОМИЧЕСКИ РАЗНООБРАЗНЫЕ СПИРОХЕТЫ ПРИСУТСТВУЮТ В ЗАТОПЛЕННОЙ УГОЛЬНОЙ ШАХТЕ

Иванов М.В.¹, Кадников В.В.², Анциферов Д.В.¹, Глухова Л.Б.¹,
Равин Н.В.², Карначук О.В.¹

¹Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет,
Томск, misham723@gmail.com

²Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Свободноживущие представители филума *Spirochaetes* широко распространены в природных биотопах, однако до настоящего времени нет сообщений о спирохетах, ассоциированных с местами залегания или добычи угля. Проведенные нами ранее молекулярные исследования микробного сообщества затопленной угольной шахты в Кузбассе показали присутствие филогенетически удаленных представителей этого филума. Целью настоящего исследования было культивирование целевых организмов.

Объектом для выделения послужила вода артезианской дренажной скважины, вскрывающей горизонты шахты «Северная» вблизи г. Кемерово. Секвенирование ПЦР-фрагментов гена 16S рРНК показало присутствие операционной таксономической единицы (ОТЕ) чьим ближайшим родственником является *Brevinema andersonii*, единственный представитель порядка *Brevinematales*, выделенный из землеройки. Доля этой ОТЕ в сообществе составляла 0.07% от всех классифицированных последовательностей. Другой минорный компонент (0.05%) представитель филума *Spirochaetes* являлся дальним родственником *Leptospira interrogans* со сходством последовательностей 87%.

Первоначальные попытки культивирования на анаэробных средах, дополненных моно- и дисахарами, а также полимерными углеводами не привели к выделению спирохет. Быстрорастущие гетеротрофные представители *Proteobacteria* успешно конкурировали за субстраты. Организмы с типичной для спирохет морфологией были выделены только после удаления органотрофов, имеющих больший диаметр клетки, путем фильтрования через бактериальный фильтр. Определение последовательности гена 16S рРНК новых изолятов показало, что они относились к филуму *Spirochaetes*, однако отличались от ранее обнаруженных ОТЕ. Один из организмов образовывал клад со *Spirochaeta aurantia* (сходство последовательностей гена 16S рРНК – 95%). Группа была значительно удалена от остальных представителей *Spirochaetaceae*, сходство с которыми не превышало 87%. Второй изолят относился к роду *Treponema* с ближайшим родственником *T. stenostreptum* со сходством последовательностей гена 16S рРНК 98%. Отсутствие выделенных организмов в метагеноме может быть связано со способом получения ДНК из воды путем фильтрования через фильтр 0.2 мкм. Как показало культивирование, спирохеты успешно проходят через бактериальный фильтр. Исследование поддержано грантом РФФИ 19-04-00981.



БИОКАТАЛИЗАТОРЫ НА ОСНОВЕ АКТИНОБАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCOCCUS* ДЛЯ ДЕСТРУКЦИИ НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ ПРИ ПОНИЖЕННЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ

Ившина И.Б., Куюкина М.С., Криворучко А.В., Елькин А.А.

Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, 13, info@iegm.ru

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, biodean@psu.ru

Бактериальная ассимиляция нефтяных углеводородов – явление глобальное и повсеместное. Этот сложный процесс способны осуществлять почвенные актинобактерии рода *Rhodococcus*, имеющие в своем распоряжении обилие разнообразных ферментов и путей биodeградации углеводородов. Благодаря исключительной пластичности физиологических функций и образованию разных приспособлений для утилизации гидрофобных субстратов родококки легко адаптируются к экстремальным условиям внешней среды и занимают доминирующее положение в биотопах нефтяных загрязнений. Биологические особенности углеводородокисляющих родококков обуславливают возможность устойчивого использования их в качестве экологически безопасных инструментов для ликвидации нефтяных загрязнений и реабилитации техногенно-нарушенных биогеоценозов в холодных климатических условиях.

Объектом исследования служили почвы разного состава в градиенте многолетнего загрязнения углеводородами и тяжелыми металлами контрастных эколого-климатических зон Западного Урала. Учет общей численности микроорганизмов в почве проводили прямым люминесцентным методом; детекцию *in/ex situ* родококков - с использованием видоспецифической ПЦР на основе разработанных специфических праймеров к экологически значимым видам, а также иммунофлуоресцентного метода; дыхательную активность почв и изолятов с помощью высокоточного респирометра; идентификацию штаммов – методами полифазной таксономии, в том числе секвенированием амплифицированных с использованием праймеров 27F и 1492R фрагментов гена 16S рРНК; изучение физико-химических и морфoфизиологических характеристик с помощью сканирующей системы атомно-силовой микроскопии, совмещенной с конфокальным лазерным микроскопом. Использовали методы почвенных микрокосмов и прогнозного математического моделирования, в качестве адсорбентов биодеструкторов – доступные в регионе материалы на основе отходов деревообрабатывающего производства. Кинетику и термодинамику адсорбционного процесса изучали методами профилометрии высокого разрешения и инфракрасного сканирования, продукты разложения углеводородов - методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и хромато-масс-спектрометрии.

На основе иммобилизованных родококков разработаны полифункциональные биокатализаторы, отвечающие по физико-химическим параметрам, числу жизнеспособных клеток, катаболической активности, стабильности при хранении и многократном использовании требованиям экобиотехнологии восстановления нефтезагрязнённых почв в условиях холодного климата.

Исследование поддержано грантом РФФИ 18-29-05-006 и Правительством Пермского края в рамках научного проекта № С-26/174.1.



МИКРОБНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ПАРНИКОВЫХ ГАЗОВ В ОЛИГОТРОФНОЙ ТОРФЯНОЙ ПОЧВЕ

Климова А.Ю.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
факультет почвоведения, Москва, nastyakli@rambler.ru

Введение. В настоящее время в связи с исследованием биосферной роли болот, их устойчивости на фоне глобального изменения климата возрос интерес к изучению процессов образования и поглощения парниковых газов. Болотные экосистемы принято рассматривать как сток атмосферного CO_2 , но направление и интенсивность этого процесса зависит от доступности других биофильных элементов и, прежде всего, азота. Именно азот во многом определяет способность почв поддерживать продуктивность болотных экосистем. Микроорганизмы фиксируют азот из атмосферы, осуществляют процессы нитрификации и денитрификации, тем самым, микробные комплексы болот выполняют особую роль в глобальном круговороте углерода и азота в биосфере.

Цели и методы. Цель исследования - оценка интенсивности процессов микробной трансформации азота и углерода в сфагновом верховом олиготрофном торфянике. В задачи исследования входило изучение влияния метана на активность азотфиксации верхового олиготрофного торфяника; влияния фототрофов на активность азотфиксации; оценка активности азотфиксации, интенсивности эмиссии CO_2 .

Методы исследования: газохроматографический (ацетиленовый метод)

Результаты исследования. Определение активности азотфиксации свидетельствовало о снижении нитрогеназной активности с глубиной и составила 0,15 нмоль C_2H_4 /г сут, что может указывать на значимую роль фототрофных диазотрофов (цианобактерий) в верховом олиготрофном болоте, при этом активность после добавлении глюкозы резко возрастала, особенно в образцах из более глубоких горизонтов сфагнума, что подтверждает выдвинутое нами предположение о вкладе фототрофных диазотрофов в процесс азотфиксации в верхних горизонтах торфяного болота. Определение активности азотфиксации очёса в присутствии метана показало резкий рост нитрогеназной активности до 0,02 мкг C_2H_4 /г сут., что значительно превышает значения в контроле и больше, чем при добавлении глюкозы.

Заключение. Полученные данные позволили установить, что окисление метана может служить источником энергии для диазотрофных бактерий олиготрофного торфяника. В азотфиксации также могут принимать участие фототрофные азотфиксирующие цианобактерии.

БАКТЕРИОФАГИ *SINORHIZOBIIUM MELILOTI*, ВЫДЕЛЕННЫЕ В ЦЕНТРЕ РАЗНООБРАЗИЯ ЛЮЦЕРН

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

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, *alexandrak95@mail.ru

Бактериофаги – это вирусы бактерий, относящиеся к 20 семействам. Ризобиофаги – фаги, специфичные к различным видам клубеньковых бактерий (ризобий). Среди них есть как литические фаги, так и умеренные. При этом ризобиофаги участвуют в контроле численности популяций ризобий в почве и могут влиять на процесс азотфиксации (Msimbira et al., 2016).

Целью данной работы было выделение ризобиофагов из почв, отобранных из-под дикорастущих растений люцерны в очаге разнообразия бобовых растений, расположенном на Кавказе. Для этого очага было показано высокое генетическое разнообразие ризобий вида *Sinorhizobium meliloti* (Румянцева и др. 2009).



В данной работе мы выделяли ризобиофаги методом двуслойного агара по Адамсу (Clokiet al., 2009) из шести образцов почв (Muntyan et al., 2019). В качестве «штамма-ловушки» (trapstrain) использовали *S. meliloti* L5-30, свободный от профагов. Нуклеиновые кислоты выделяли с использованием набора GeneJET Viral DNA and RNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Концентрации нуклеиновых кислот были определены с помощью спектрофотометра Biophotometer (Eppendorf AG, Германия).

Литические бактериофаги, специфичные к *S. meliloti* L5-30, были обнаружены только в одном из шести образцов почв. Однако, все они имели разные типы фаговых бляшек. Выявлено четыре контрастных типа: бляшки диаметром 1 мм или 2-6 мм с четкими краями; бляшки диаметром 3-5 мм или 2-8 мм с зоной лизиса, в последнем случае выявлено помутнение по краю. Установлено, что выделенные бактериофаги являлись ДНК-содержащими вирусами.

ДНК двух ризобиофагов секвенировали (MiSeq, Illumina). Сборку геномов проводили с использованием программы SPAdes. В результате получено 2 полных вирусных генома, далее фаг 1 и 2. Размер генома фага 1 составил 61 т.п.н., он содержал 94 ОРС. Более половины генома фага 1 была на 96.2% гомологична геному умеренного фага 16-3 семейства *Siphoviridae* (RefSeq: NC_011103.1). Размер генома фага 2 составил 43 т.п.н., в его составе выявлено 60 ОРС. Его геном не имел гомологии с известными геномами фагов, однако содержал протяженные последовательности, гомологичные геномному острову штамма *S. meliloti* RU11/001.

В очаге разнообразия *S. meliloti* выявлены ДНК-содержащие контрастно различающиеся по морфологическим признакам ризобиофаги, представляющие собой рекомбинантные формы представителей семейства *Siphoviridae*, а также не описанных ранее фагов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ 17-16-01095.

1. Clokiet al. 2009. doi: 10.1007/978-1-60327-164-6

2. Msimbira L.A. et al. 2016. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2016.09.010>

3. Muntyan V.S. et al. 2019. doi: 10.5593/sgem2019/6.1/S25.073

4. Румянцева М.Л. и др. Экологическая генетика. 2009. 7(2): 19-25.

ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ НЕКУЛЬТИВИРУЕМОГО ПРЕСНОВОДНОГО МАГНИТОТАКТИЧЕСКОГО КОККА 'Ca. MAGNETAQUICOCCLUS INORDINATUS' UR-1

Козяева В.В.¹, Дзюба М.В.¹, Узун М.М.^{1,2}, Груздев Д.С.^{1*}

¹ Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

² ФГБОУВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», Москва,

Магнитотактические кокки порядка *Magnetococcales* являются наиболее часто встречаемым представителем магнитотактических бактерий (МТБ) как в пресных, так и в морских средах обитания. Из-за трудности их культивирования в чистую культуру были выделены только три морских представителя, относящиеся к семейству *Magnetococcaceae*. Филогенетический анализ последовательностей 16S рРНК магнитотактических кокков указывает на их значительное разнообразие, однако малое число культивируемых представителей позволяет их классифицировать только на уровне порядка. Кроме того попытки ассоциировать морфологию клеток и магнетосом пресноводных кокков с последовательностью 16S рРНК не достигли ясных результатов. В недавнем исследовании Lin с соавт. реконструировали из метагеномных данных 12 геномов пресноводных магнитотактических кокков, что дало новые возможности для сравнительного геномного анализа, однако их морфология не была исследована.

В настоящем исследовании с использованием критериев описания некультивируемых микроорганизмов были описан пресноводный магнитотактический кокк 'Ca. *Magnetaquicoccus inordinatus*' UR-1. Применением FISH-TEM подхода с помощью специфичного зонда на 16S рРНК была проведена идентификация его морфологии. Также был получен и проанализирован его геном, что впервые позволило ассоциировать геномные данные пресноводного магнитотактического кокка с его фенотипом.



По результатам проведенного анализа (филогенетическое дерево коровых белков и подсчет геномных индексов AAI и РОСР) метагенома UR-1 и доступных геномов магнитотактических кокков, были предложены пороги разделения таксонов на уровне семейства и рода внутри порядка Magnetococcales. В результате было выделено 5 семейств, в одно из которых, обозначенное нами как 'Ca. Magnetaquicossaceae', входил кокк UR-1. Гибридизацией со специфичным зондом для UR-1 и последующей электронной микроскопией гибридных клеток было показано, что UR-1 синтезировал неорганизованные в цепочки магнетосомы. В метагеноме были идентифицированы гены биоминерализации магнетосом, организация которых отличалась от таковых у морского кокка *Magnetococcus marinus* MC-1, синтезирующего одну цепочку магнетосом. Филогенетический анализ аминокислотных последовательностей магнетосомных генов показал отсутствие коллинеарности дереву, построенному на основании коровых белков. Полученные результаты анализа свидетельствовали о возможном явлении горизонтального переноса генов биоминерализации магнетосом внутри порядка *Magnetococcales*.

КЛОНИРОВАНИЕ ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ ПРОТЕАЗЫ-АКТИВАТОРА ПРОТЕИНА С ПЛАЗМЫ КРОВИ, ПРОДУЦИРУЕМОЙ МИКРОМИЦЕТОМ *ASPERGILLUS OCHRACEUS* BKM-F4104D

Комаревцев С.К., Кабилов, М.Р., Шнейдер М.М., Попова Е.А.,
Мирошников К.К., Осмоловский А.А., Мирошников К.А.

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В.Ломоносова,
Москва, info@mail.bio.msu.ru

Микромицет *Aspergillus ochraceus* BKM-F4104D является продуцентом фибринолитической протеазы, которая способна активировать протеин С плазмы крови – один из важных антикоагулянтных факторов.

Из биомассы *A. ochraceus* выделяли РНК, после чего при помощи обратной транскрипции и ПЦР амплифицировали кДНК исследуемой протеазы и клонировали её в бактериальный экспрессионный вектор pET23d.

В результате работы были получены молекулярно-генетические конструкции для бактериальной экспрессии протеазы из *A. ochraceus*, установлена её аминокислотная последовательность и ближайшие гомологи.

Достигнутые успехи в будущем дают возможность более доступного получения протеазы из *A. ochraceus*, что позволит использовать её в диагностических, медицинских и других целях.

МИКРОБНАЯ АЗОТФИКСАЦИЯ, АССОЦИИРОВАННАЯ С ПОЧВЕННЫМИ БЕСПОЗВОНОЧНЫМИ

Костина Н.В.¹, Вечерский М.В.², Кузнецова Т.А.²

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, факультет почвоведения, nvkostina@mail.ru

²ИПЭЭ имени А.Н. Северцова РАН, Москва

Микробная азотфиксация обнаружена в пищеварительном тракте многих видов животных, питающихся низкобелковыми кормами, в том числе, и беспозвоночных: термитов, короедов, тараканов, морских ежей, жуков скарабеев, муравьев, кошенили и др. Важность этого процесса для организма хозяина велика – так, доля «биологического» азота может достигать у термитов 60% от общего азота их тела. Тем не менее, до сих пор малоисследованными остаются аспекты взаимодействия бактерий-дiazотрофов с почвенными беспозвоночными. По предваритель-



ным оценкам, количество азота, фиксированного кишечными симбионтами только членистоногих, может достигать 10-40 кг/га в год, что может внести существенные коррективы в представление о масштабах азотфиксации в почвах.

Целью работы было изучение микробной азотфиксации у почвенных беспозвоночных с использованием балансового, изотопного и газохроматографического методов, а также анализ структурно-функциональных особенностей микробиома исследуемых видов.

Была выявлена микробная азотфиксация у представителей разных эколого-трофических групп почвенных беспозвоночных: термитов, дождевых червей, личинок насекомых (*Tipulidae*, *Diptera*; *Coleoptera*, *Elateridae*). Оценена биомасса, таксономическое и функциональное разнообразие микробных сообществ почвы, кишечника и копролитов исследуемых видов беспозвоночных. Установлено, что микробные комплексы пищеварительного тракта личинок насекомых разных эколого-трофических групп значительно различаются.

Нами впервые обнаружена активная азотфиксация в пищеварительном тракте личинок типулид и жуков-щелкунов, значительно превышающая азотфиксацию в кишечнике дождевых червей. Максимальная нитрогеназная активность обнаружена у личинок типулид *Tipula maxima*. Впервые проведено метагеномное исследование филогенетической структуры микробиома кишечника личинок *Tipula maxima*, показано существенное изменение микробиома кишечника при смене питания личинок. Проведен метагеномный анализ разнообразия *nifH* генов суммарной бактериальной ДНК почвы, кишечника личинок типулид и их копролитов. Обнаружено очень высокое разнообразие азотфиксаторов в кишечнике личинок *Tipula maxima* (31 ОТЕ) по сравнению с фоновой почвой (15 ОТЕ).

Показано, что микробная азотфиксация, ассоциированная с беспозвоночными, имеет гораздо более широкое распространение, а азотфиксирующие кишечные бактерии беспозвоночных активно функционируют в их копролитах и в почве.

МИКРОБИОМ ЗЕЛеной КАРОТИНОГЕННОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *HAEMATOCOCCUS LACUSTRIS*

Кублановская А.А., Чеканов К.А., Федоренко Т.А., Лобакова Е.С.

Московский Государственный Университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,
Москва, annakublanovskaya@gmail.com

Микроводоросль (Мв) *Haematococcus lacustris* – биотехнологически значимый продуцент кетакаротиноида астаксантина. В природных условиях *H. lacustris* часто развивается в супралиторальных скальных ваннах в виде альго-бактериальных ассоциаций. В лабораторных условиях получение аксенических культур Мв затруднено или невозможно. Целью данной работы было изучение таксономического состава и биоразнообразия прокариотического компонента сообществ *H. lacustris* в природных образцах, а также выявление постоянных бактерий-спутников Мв.

Пробоотбор природных сообществ Мв *H. lacustris*, представленных биопленками и суспензией с флоккулами клеток Мв, был проведен из скальных ванн побережья Белого моря в окрестностях ББС МГУ имени Н.А. Перцова. В качестве контроля была отобрана водная проба, содержащая клетки различных зеленых микроводорослей и диатомей. Природные образцы были изучены с помощью светлопольной и сканирующей электронной микроскопии. Альгологически чистые культуры микроводоросли были получены с помощью стандартных микробиологических методов. На основе библиотек фрагмента гена 16S рРНК был проведен метагеномный анализ прокариотического компонента природных сообществ и лабораторных культур Мв.

Бактериальные филы *Proteobacteria* и *Bacteroidetes* являлись доминантными группами во всех природных образцах. Представители семейств *Comamonadaceae*, *Cytophagaceae* и *Xanthomonadaceae* являлись компонентами образцов всех сообществ, включая контрольную пробу. При исключении таксономических групп, отмеченных в контроле, семейства



Acetobacteraceae, *Rhodobacteraceae* и *Rhodocyclaceae*, а также рода *Hydrogenophaga* и *Cytophaga* были выявлены во всех природных ассоциациях Мв *H. lacustris*.

Разнообразие лабораторных культур бактерий было значительно ниже. Доминантной являлась фила *Proteobacteria*, составляющая более 95 % коротких чтений NGS, также были отмечены представители филы *Actinobacteria*. Семейства, общие для всех образцов природных ассоциаций микроводоросли – *Comamonadaceae* и *Rhodobacteraceae*, – были выявлены и в лабораторных культурах; род *Hydrogenophaga* являлся доминантным.

В работе впервые описывается таксономический состав бактериального компонента природных ассоциаций Мв *H. lacustris*, а также проводится сравнение его с микробиомом лабораторных культур Мв. Показано, что представители семейств *Comamonadaceae* (род *Hydrogenophaga*) и *Rhodobacteraceae* являются постоянными спутниками *H. lacustris* как в природе, так и в лабораторных условиях.

ПРОФИЛИРОВАНИЕ СТАТУСА О-АНТИГЕНА БАКТЕРИЙ КАК ИНСТРУМЕНТ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРАТЕГИЙ ИНФЕКЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ

Куликов Е., Голомидова А., Летаров А.

ФИЦ «Биотехнологии» РАН, лаборатория вирусов микроорганизмов, Москва,
eumenius@gmail.com

Поверхностные О-антигены Гр- бактерий активно модулируют взаимодействие клеток с факторами окружающей среды (бактериофагами, иммунной системой и пр.). Многие фаги умеют узнавать и преодолевать ОАг.

Необходимо иметь метод быстрого анализа статуса ЛПС клеток энтеробактерий до и после взаимодействия с фагами. Нами была разработана методика быстрой визуализации ЛПС окрашенной серебром в геле.

Валидность метода была проверена нами на наборе мутантных штаммов природного изолята кишечной палочки 4s с подавленным или изменённым синтезом структур внешнего липополисахарида.

Установлено, что стратегии инфекции исследуемых нами бактериофагов полностью подтверждаются результатами биологических экспериментов на спонтанных мутантах, отобранных действием фаговой инфекции.

Работа поддержана грантом РФФИ 15-15-00134.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРИАРАЛЬЯ

Кулонов А., Мавжудова А., Нурмухамедова Х.,
Верушкина О., Мирзарахметова Д., Тонких А., Разаков Р.

Институт Микробиологии АНРУз, Ташкент, Узбекистан, microbio@academy.uz

В мире имеется достаточно большая коллекция штаммов микроводорослей и бактерий, которые используются при промышленном культивировании для получения различных биологически активных веществ (каротинов, липидов, витаминов и т.д.), полисахаридов и полиэфиров. Тем не менее, не охарактеризованы многие представители рода *Dunaliella* и галофильных бактерий из местных гиперсолёных водоёмов в Узбекистане и Каракалпакии, которые имеют большой потенциал для промышленного использования.

В связи с этим целью настоящей работы был поиск новых штаммов *Dunaliella* sp, бактерий рода *Haloferox* и *Halococci* в гиперсолёных водоёмах Узбекистана и Каракалпакстана. Поиск озёр с высокой минерализацией проводили, измеряя солёность воды с помощью переносного



рефрактометра-солемера MASTER-S28a Компании ATAGO (Япония). Анализ видового состава фитопланктона был выполнен на основании Определителей водорослей [1951, 1953, 1954, 1957; Масюк, 1973].

В исследованных водоёмах Республики Каракалпакстан и Хорезмской, Наманганской, Ферганской Бухарской областей РУз с солёностью воды от 30 до 250 г/л обнаружено 4 представителя *Dunaliella* sp., из которых были выделены 2 чистые культуры *Dunaliella* sp. На одном из выделенной культуры был отработан накопительный и квазинепрерывный способ культивирования. Было определено, что интенсивный белый свет 20000-60000 лк ($360 - 1080 \mu\text{Mols} \cdot \text{m}^{-2}$), а также добавление к белому свету слабого (2000 лк) и мягкого ультрафиолета (280-400 нм) ускоряет накопление каротиноидов и токоферолов. Показано, что максимальной выход биомассы происходит на 5 сутки на стационарной фазе роста микроводоросли (1 г биомассы с одного литра). Химический анализ биомассы *Dunaliella* sp показал, что, суммарных каротиноидов в биомассе может достигать 24,8 мг%, токоферолов 2,8 мг%, сумма липидов - 0,7% биомассы, из которых Омега-6 - 11,4%, Омега-3 и Омега-9 - 8,8%.

Из образцов озёр Кунградского района были выделены также галотолерантные (кокки, красного цвета) и галофильные (палочковидные, светло розового цвета) бактерии. Выявлено, что они при культивировании в периодическом процессе образуют экзополисахариды в количестве 0,7-1,0%. Изучены некоторые химические свойства полисахаридов.

Полученные данные имеют большое значение для определения микробиологического разнообразия Приаралья, пополнения коллекции промышленно важных микроорганизмов и микроводорослей, а также разработки промышленного культивирования микроводорослей и бактерий для получения различных биологически активных веществ (каротинов, липидов, витаминов и т.д.), полисахаридов и полиэфиров.

ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА И ВЫЯВЛЕНИЕ ВИДОВ ГРИБОВ - ОБИТАТЕЛЕЙ ДОННЫХ ГРУНТОВ БЕЛОГО МОРЯ

Кураков А.В., Комиссаров Н.С., Хуснуллина А.И.

Москва, Ленинские горы, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, kurakov57@mail.ru

Морские донные грунты населены многими организмами, из которых одними из малоизученных остаются грибы. В них сотни видов грибов, но в большинстве случаев неизвестно кто из них там обитает.

Цель работы — экофизиологическая характеристика грибов, изолированных из грунтов Белого моря и выявление видов, способных в них развиваться.

Использовали штаммы *Acremonium tubakii*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. salinae*, *C. halotolerans*, *Cystofilobasidium infirmominiatum*, *Eupenicillium limosum*, *Fusarium culmorum*, *Lecanicillium muscarium*, *Leucosporidium scottii*, *Memmoniella dichroa*, *Mucor hiemalis*, *Paradendryphiella salina*, *Penicillium roqueforti*, *P. solitum*, *Pseudeurotium hygrophilum*, *Purpureocillium lilacinum*, *Simplicillium lamellicola*, *Talaromyces diversus*, *T. rugulosus*, *T. variabilis*, *Tolypocladium cylindrosporum*, *T. inflatum*, *Umbelopsis longicollis* из коллекции, включающей 80 видов — морских изолятов. Их идентифицировали по культурально-морфологическим признакам и ITS участкам ДНК. Для выяснения способности штаммов этих 23-х видов к функционированию в грунтах определяли скорость роста на сусло-агаре на морской воде при температурах +5°C-+35°C, высоком содержании NaCl (до 50‰), на крахмале, целлюлозе, хитине, кератине и фрагментах таллома ламинарии и в анаэробных условиях, а также динамику численности при инкубации в стерильном грунте.

Все штаммы — галотолеранты, половина из них — психротолеранты, некоторые психрофильные и факультативно-анаэробные грибы. Для ряда видов эти свойства установлены впервые. *C. infirmominiatum*, *L. scottii*, *P. salina*, *S. lamellicola*, виды родов *Cladosporium*, *Penicillium*,



Talaromyces, *Tolypocladium* повышали численность КОЕ, а в ряде случаев визуально наблюдали появление мицелия или клеток дрожжей на поверхности грунта после 3-х месячной инкубации.

На основе анализа данных виды *A. tubakii*, *C. cladosporioides*, *C. halotolerans*, *C. salinae*, *C. infirmominiatum*, *F. culmorum*, *L. scottii*, *M. hiemalis*, *P. salina*, *P. roqueforti*, *P. solitum*, *P. hygrophilum*, *T. inflatum* можно отнести к наиболее приспособленным к обитанию в глубинных грунтах Белого моря. Из них в анаэробных слоях грунтов способны к жизнедеятельности *F. culmorum*, *C. cladosporioides*, *C. salinae*, *M. hiemalis*, *P. salina*, *P. roqueforti*, *P. solitum*, *T. inflatum*, дрожжевые виды.

ПРОФИЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВАХ БУГРИСТЫХ ТОРФЯНИКОВ

Лаптева Е.М.¹, Виноградова Ю.А.¹, Ковалева В.А.¹, Перминова Е.М.¹, Чернов Т.И.²

¹Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, lapteva@ib.komisc.ru

²Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва

В последнее время уделяется особое внимание изучению почвенных микробных сообществ, функционирующих в экстремальных условиях. На территории Арктики и Субарктики значимое влияние на состав и профильное распределение микроорганизмов оказывает близкое залегание многолетнемерзлых пород (ММП).

Цель данной работы заключалась в изучении особенностей распределения эукариот и прокариот в торфяной залежи бугристых болот Европейского Северо-Востока России.

Объектами исследования послужили массивы бугристых болот Большеземельской тундры (БЗТ), два из которых приурочены к зоне лесотундры (ключевой участок «Нарьян-Мар»), один – к подзоне южной тундры (ключевой участок «Роговая»). В образцах торфа определяли численность и биомассу бактерий, спор грибов и длину мицелия (в том числе потенциально жизнеспособных) методом флуоресцентной микроскопии, функциональное разнообразие микроорганизмов – методом мультисубстратного тестирования (МСТ), таксономический состав прокариот – на основе ПЦР-диагностики амплифицированных фрагментов генов 16S рРНК бактерий и архей.

По величине суммарной микробной биомассы (СМБ) сезонно-талые (СТС) и мерзлые слои торфа различаются на 1-2 порядка. В южной тундре максимум СМБ (9-10 мг/г) приходится на верхнюю (0-10 см) толщу профиля, в лесотундре он может смещаться на глубину 10-30 см (7-23 мг/г). Снижение СМБ вниз по профилю коррелирует с уменьшением в этом направлении спор и мицелия грибов. Основу СМБ в СТС составляет мицелий грибов, в ММП – их споры. На долю прокариот приходится от 2-3 (СТС) до 37 (ММП) % суммарной биомассы. Мицелий грибов в торфянике тундры ограничен СТС, в лесотундре он встречается и в верхней части ММП (на глубине до 90-100 см). При этом во всех слоях торфа присутствуют преимущественно потенциально жизнеспособные гифы грибов. Потенциально жизнеспособные клетки бактерий преобладают в верхних слоях СТС, в надмерзлотных горизонтах их численность снижена в 2-3 раза. В ММП доля клеток бактерий с ненарушенной мембраной может составлять до 33-65 % от общего числа клеток прокариот.

СТС и ММП отличаются по таксономической структуре комплексов прокариот. В СТС доминируют представители филума *Acidobacteria*, к которым относятся 30–84% всех проанализированных последовательностей гена 16S рРНК. Особенностью мерзлой толщи торфа является: (1) значительная представленность филума *Firmicutes* (21–42%); (2) присутствие архей группы *Thaumarchaeota*. Метаболический профиль микробных сообществ ММП близок по количеству используемых групп органических соединений и активности их потребления к микробным сообществам, функционирующим в поверхностных слоях СТС. В надмерзлотных горизонтах интенсивность и структура потребляемых микроорганизмами субстратов резко снижены.



Таким образом, в результате проведенных исследований определена специфика распределения микроорганизмов в СТС и ММП торфяной залежи бугристых болот БЗТ. Показано, что наиболее неблагоприятные условия для их функционирования складываются в надмерзлотных слоях СТС. В мерзлой толще торфа сохраняется высокая функциональная активность микробных сообществ при существенном снижении количества микроорганизмов и изменении их таксономической структуры.

Работа выполнена в рамках проекта УрО РАН №18-9-4-40.

УЛЬТРАМИКРОФОРМЫ БАКТЕРИЙ И ИХ РОЛЬ В ТРАНСПОРТЕ РАДИОНУКЛИДОВ

Лобанова А.А.¹, Сафонов А.В.¹, Коневник Ю.В., Бабич Т.Л.²

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

Загрязнение окружающей среды высокотоксичными веществами (радиоактивными элементами и тяжелыми металлами) приводит к интенсивному развитию видов прокариот, обладающих механизмами устойчивости к экотоксикантам. Известно, что бактерии ультрамелких форм, относящиеся к несистемной группе ультрамикробактерий (УМБ), широко распространены в различных природных местообитаниях и высоко приспособлены к токсическому стрессу [1;2]. При этом, мелкие размеры клеток создают дополнительные возможности их перемещения с потоком пластовых вод в пористых водоносных горизонтах, и, вследствие этого, может возникать механизм псевдоколлоидного переноса сорбированных на них и на продуктах их метаболизма загрязнителей.

Целью работы являлся поиск УМБ в загрязненных нитрат-ионами, тяжелыми металлами и радионуклидами водах глубинных и приповерхностных водоносных горизонтов в районе предприятий атомной промышленности Томска, Красноярска, Димитровграда, Новосибирска и Ангарска, изучение их устойчивости к тяжелым металлам и ионизирующему излучению.

На основании филогенетического анализа в пробах подземных вод обнаружено большое сообщество микроорганизмов различных метаболических групп, размером менее 0,22 мкм. В сообществах микробактерий глубинного и приповерхностного горизонтов доминировали представители семейств *Sphingomonadaceae* и *Burkholderiaceae*. Бактерии семейства *Pseudomonadaceae* обнаружены во всех пробах независимо от глубины залегания и антропогенной нагрузки. Было выделено в чистую культуру и идентифицировано методом анализа фрагмента гена 16S рРНК 22 штамма бактерий, способных образовывать ультрамикробактерии. Из них у некоторых штаммов (*Acidovoraxfacilis*, *Castellanielladefragrans*, *Halomonassp.* и др.) размер клеток увеличивался при росте на богатой питательной среде, а штаммы, *Arthrobacter sp.* и *Stenotrophomonas maltophilia* в оптимальных условиях продолжали формировать ультрамелкие клетки. Для них установлена высокая устойчивость к тяжелым металлам (до 400 мкг/мл для Cr и U) и высокая радиорезистентность (до 25кГр). Оценка сорбционной емкости биомассы показала возможный вклад ультрамелких форм клеток в транспорт урана, плутония и америция.

Работа поддержана грантом РФФИ №17-17-01212.

Duda V., Suzina N., Polivtseva V., Boronin A. Ultramicrobacteria: Formation of the Concept and Contribution of Ultramicrobacteria to Biology // Microbiology. 2012. № 81(4): p. 379–390.

Folk R.L., Lynch F.L. Nanobacteria are alive on Earth as well as Mars // Proceedings of SPIE. 1997. №3111: p. 406-419.



7 α -ГИДРОКСИЛИРОВАНИЕ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА ГРИБНЫМ ШТАММОМ GIBBERELLA ZEAE VKM F-2600

Лобастова Т.Г., Хомутов С.М., Довбня Д.В., Донова М.В.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пущино, lobastova_t@rambler.ru

Гидроксилирование является одной из важнейших реакций функционализации стероидной молекулы микроорганизмами. В ряде работ было показано, что гидроксипроизводные дегидроэпиандростерона являются интермедиатами в химическом синтезе лекарственных препаратов. Проведенный нами скрининг среди мицелиальных грибов (свыше 480 штаммов) выявил штаммы, селективно проводящие 7 α -гидроксилирование дегидроэпиандростерона (ДГЭА).

Целью данного исследования являлось изучение реакции 7 α -гидроксилирования ДГЭА штаммом *Gibberella zeae* VKM F-2600 и разработка биотехнологического метода получения 7 α -гидроксидегидроэпиандростерона (7 α -ОН-ДГЭА).

Мы исследовали влияние источников углерода и азота, метилированного β -циклодекстрина (МЦД), растворителей и pH на 7 α -гидроксилирование ДГЭА штаммом *G. zeae*. Культура, выращенная на средах с сахарозой, глюкозой или фруктозой, активно трансформировала ДГЭА (1 г/л) и выход 7 α -ОН-ДГЭА составлял 66.3-75.5% за 4 часа биоконверсии. Органические источники азота (соевый пептон, дрожжевой экстракт, триптон) обеспечивали более высокую 7 α -гидроксилазную активность мицелия, чем нитрат натрия. Внесение ДГЭА в этаноле или ДМФА (2-4%) увеличивало выход 7 α -гидроксипроизводного по сравнению с добавлением субстрата в виде кристаллического порошка. Добавление МЦД (соотношение субстрат:МЦД (1.0:1.5-1.0:2.0, моль/моль)) повышало выход 7 α -ОН-ДГЭА до 73.9-75.8% из ДГЭА (5 г/л). Исследование влияния pH среды на 7 α -гидроксилазную активность штамма в диапазоне 5.0-8.0 показало, что pH 7.0 являлся оптимальным значением. Биопроцесс проводили в ферментерах объемом 3 л с концентрацией субстрата от 5 до 20 г/л. Выделение целевого продукта из трансформационной среды выполняли методами экстракции и перекристаллизации. Выход кристаллического 7 α -ОН-ДГЭА составил 54-55% с хроматографической чистотой 96%.

Разработанный метод может быть использован для биотехнологического получения ценного стероидного предшественника - 7 α -ОН-ДГЭА из ДГЭА.

Благодарности: работа поддержана РНФ (проект № 18-14-00361).

МИКРОБНЫЕ МАТЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ВЫХОДАМИ ГЛУБИННЫХ ТЕРМАЛЬНЫХ ВОД, КАК ИСТОЧНИК ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НОВЫХ ОРГАНИЗМОВ ПОДЗЕМНОЙ БИОСФЕРЫ

*Лукина А.П., Гавенко А.А., Анциферов Д.В., Глухова Л.Б., Франк Ю.А.,
Карначук О.В.*

Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет»,
Томск

Культивирование термофильных организмов подземной биосферы, обитающих в водоносных горизонтах на глубине 2-3 километров, сопряжено со значительными трудностями. Микроорганизмы характеризуются невысокими скоростями роста, что связано с недостатком доноров и акцепторов электронов, а также азота и фосфора. Своеобразными «окнами» в глубинную биосферу являются нефтепоисковые скважины. Большинство из них являются артезианскими с водой, поступающей под давлением, вследствие существования водоупорных вмещающих пород. В местах излива термальной подземной воды из скважин на поверхность часто образуют-



ся микробные обрастания. Активирование роста микроорганизмов может происходить за счет возможности использовать свет и кислород, недоступные в подземных горизонтах. В свою очередь, в условиях постоянного подтока глубинной термальной воды, гетеротрофные организмы подземной биосферы могут накапливаться в богатых органическими соединениями матах. Мы предположили, что микробные обрастания в местах разлива термальных скважин могут быть потенциальным источником для выделения микроорганизмов подземной биосферы, прежде всего спорообразующих бактерий.

Для проверки нашей гипотезы было проведено выделение анаэробных сульфидогенных организмов из двух образцов микробных обрастаний. Микробный мат, обозначенный, Bu-1-1 формировался на выходе термальных вод, поступающих из нефтеразведочной скважины Г-1 в поселке Жемчуг (Тункинская долина, Республика Бурятия). Второе микробное обрастание, обозначенное Tu-1, формировалось на разливе выхода термальной воды нефтепоисковой скважины в Тюмени. Из микробных обрастаний получены чистые культуры спорообразующих сульфидогенов, относящихся к новым родам семейства *Peptococcaceae*. Ближайшим родственником штамма Bu1-1 был *Desulfallus alcoholivorax* со сходством последовательностей гена 16S рНК 92.77%. Ближайшим культивируемым родственником штамма Tu-1 является *Candidatus Desulforudis audaxviator*, сходство последовательностей гена 16S рНК с которым составляло 92%. *Candidatus Desulforudis audaxviator* – уникальный обитатель подземной биосферы был выделен ранее в нашей лаборатории из проб глубинных термальных горизонтов. Все ближайшие некультивируемые родственники штаммов Bu1-1 и Tu-1 были обитателями подземных местообитаний, что подтверждает происхождение организмов из подземной биосферы.

Отбор проб и выделение штамма Tu-1 поддержано грантом РФ 18-14-00130, изучение штамма Bu1-1 - грантом РФФИ 18-34-00322.

АКТИВНОСТЬ ОКСИДОРЕДУКТАЗ МИКРОМИЦЕТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ СЛАБОГО МАГНИТНОГО ПОЛЯ И НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ.

Макаров И.О., Ключев Д.А., Дикарева Н.В., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А.

Нижегородский государственный университет им. Н.И.Лобачевского, Нижний Новгород,
biodeg@mail.ru

Известно, что одной из основных функций микроскопических грибов, определяющей их экологическое значение, является их деструктивная деятельность, которая может иметь как позитивную направленность – грибы как природные редуценты, так и негативную – грибы, вызывающие биоповреждение и биодеструкцию промышленных материалов и изделий. В настоящее время большое внимание уделяется поиску различных факторов, способных влиять на метаболизм грибов, что может приводить к изменению их деструктивной активности. Целью настоящей работы является изучение действия слабого магнитного поля и низкоинтенсивного лазерного излучения на активность внутренних оксидоредуктаз (каталазы, пероксидазы) грибов *Aspergillus niger*, *Penicillium cyclopium*, *Alternaria alternata* – активных деструкторов различных материалов.

Для воздействия МП использовали источник VL 2 (пачки по 20 импульсов длительностью 227 мкс с амплитудой магнитной индукции 1.5 мТл, следующие с частотой 15 Гц). В качестве источника НИЛИ использовался многомодовый полупроводниковый InGaP/GaAs/InGaAs лазер полоскового типа. Режим работы непрерывный, длина волны генерации 980 нм. Изучалось воздействие лазера на двух показателях мощности – 0.3 Вт и 0.7 Вт.

Показано, что оба фактора имеют дозозависимый эффект и в большинстве опытов оказывают неоднозначное воздействие на активность эндооксидоредуктаз. Воздействие МП вызвало увеличение активности эндокаталазы *A. niger* и *P. cyclopium* и снижение активности эндопероксидазы *P. cyclopium*. Воздействие НИЛИ оказало ингибирующий эффект на активность эндокаталазы и эндопероксидазы *P. cyclopium*. При воздействии НИЛИ на *Alt. alternata* активность как эндокаталазы, так и эндопероксидазы возросла.



Таким образом, были отмечены различные эффекты воздействия МП и НИЛИ на активность исследуемых микромицетов, что позволяет направить вектор дальнейших исследований как в сторону увеличения активности ферментных систем, так и в сторону ее снижения. Неоднозначность воздействия исследуемых физических факторов можно объяснить как их различной природой, так и физиолого-биохимическими особенностями микромицетов.

ЛАЗЕРНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ МИКРОБНЫХ СИСТЕМ

*Минаев Н.В.¹, Жигарьков В.С.¹, Чутко Е. А.¹, Юсупов В.И.¹, Чепцов В.С.², Качесов К.И.²,
Горленко М.В.², Елизаров И.М.³, Гаврилов С.Н.³, Кочеткова Т.В.³, Заюлина К.С.³,
Кубланов И.В.³, Бонч-Осмоловская Е.А.^{3,4}, Чичков Б.Н.¹*

1 – Институт фотонных технологий ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН,
minaevn@gmail.com

2 – Факультет почвоведения, Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова

3 – Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН ФИЦ
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН

4 – Биологический факультет, Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова

Введение. Представлена оригинальная технология Лазерная Инженерия Микробиологических Систем (ЛИМС) и программно-аппаратные комплексы для выделения и пространственно-го переноса отдельных бактерий и их носителей.

Цели и методы исследования. Подход основан на методе прямого лазеро-индуцированного переноса – под действием лазерных импульсов реализуется печать микрокаплями геля объемом от 10 пл, содержащего живые микробиологические объекты.

Результаты исследования. Получены новые научные результаты, которые показали существенное увеличение таксономического разнообразия микроорганизмов, выделяемых из почв; выделен редкий штамм (GenBank KY363604) рода *Nonomuraea*.

Заключение. Представленный подход будет востребован для выделения редких микроорганизмов, биологически активных веществ и новых антибиотиков, создания тканеинженерных конструкций для задач регенеративной медицины

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках выполнения работ по Государственному заданию ФНИЦ «Кристаллография и фотоника» РАН. Минаев Н.В. является получателем стипендии Президента Российской Федерации № СП-2728.2019.4

ДЕСТРУКЦИЯ ЛИПИДОВ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Моисеева Е.В., Худокормов А.А., Самков А.А., Волченко Н.Н., Карасева Э.В

ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет (ФГБОУ ВО «КубГУ»), Краснодар,
moisieieva97@inbox.ru

Липиды являются обширной группой гидрофобных органических соединений, имеющих сложное химическое строение и переменный состав жирных кислот, что влияет на скорость и степень их разложения. Экспериментально нами установлено, что при загрязнении почвы подсолнечным маслом на 76% снижается всхожесть растений Овса голозерного, а общая биомасса уменьшается на 52%.



С целью создания технологии биологического обезвреживания липидсодержащих отходов была изучена способность к деградации жиров микроорганизмами из коллекции КубГУ. Образцами загрязняющих липидов послужили подсолнечное масло и говяжий жир, которые использовались при культивировании бактерий в качестве единственного источника углерода и энергии. Для проведения скрининга использовались жидкая и плотная минеральные среды, а также среда Штерна. Объектами исследования выступали 125 штаммов коллекционных культур, относящихся к различным систематическим группам. Они были идентифицированы методом MALDI и ПЦР, а также по Определителю бактерий Берджи (1997).

В составе подсолнечного масла преобладают ненасыщенные жирные кислоты, поэтому при культивировании бактерий на плотных средах деструкция масла идет в 2 раза активнее, по сравнению с говяжьим жиром. Растительное масло с разной степенью интенсивности были способны окислять 52,8 % штаммов соответственно. Твердые жиры окисляются с меньшей интенсивностью, так как в их химическом составе преобладают насыщенные жирные кислоты, но 42,4 % культур были способны окислять говяжий жир на обеих средах. Семнадцать штаммов проявили способность к окислению как говяжьего жира, так и подсолнечного масла. На жидких средах процесс липолиза как масла, так и жира идет интенсивнее в 2-3 раза, чем на плотных средах. Отмечено, что даже в пределах одного рода липолитическая активность не одинакова, что говорит о штаммоспецифичности этого процесса. Способность к разложению липидов, проявили штаммы, относящиеся к разным таксономическим группам, среди которых преобладают представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Dietzia*, *Nocardia*, *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Exiguobacterium*, *Kocuria*.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТАКСОНОМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И РЕМЕДИАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА РИЗОСФЕРНЫХ МИКРОБИОМОВ РАСТЕНИЙ, ПРОИЗРАСТАЮЩИХ НА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННОЙ ПОЧВЕ

Муратова А.Ю.¹, Голубев С.Н.¹, Панченко Л.В.¹, Галицкая П.Ю.²,
Бикташева Л.Р.², Селивановская С.Ю.², Турковская О.В.¹

¹Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

²Институт экологии и природопользования, Казанский федеральный университет, Казань

Растения семейств Мятликовые и Бобовые часто встречаются на нефтезагрязненных участках, обладают фиторемедиационным потенциалом и широко используются для очистки почвы от нефтяных углеводородов. Объектами исследований служили образцы ризосферной почвы, отобранной из-под растений, произрастающих на сильно загрязненном нефтяными углеводородами участке промышленной зоны: вейника наземного (*Calamagrostis epigeios* (L.) Roth.), ежовника обыкновенного (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.), люцерны серповидной (*Medicago falcata* L.) и люцерны хмелевой (*Medicago lupulina* L.)). Целью работы являлось определение таксономической структуры и распространенности функциональных генов *alkB* и *nah* в ризосферных микробиомах растений, произрастающих на нефтезагрязненной почве.

Для выполнения исследований проводили выделение и очистку ДНК из образцов ризосферной почвы с использованием FastDNA®SPIN Kit for Soil (Q-BIOGene, Гейдельберг, Германия), согласно рекомендациям производителя. Число копий генов *alkB* и *nah*, кодирующих ферменты деградации нефтяных углеводородов, в образцах ризосферной и неризосферной почвы определяли с помощью количественного ПЦР-анализа и набора праймеров. Исследование таксономической структуры ризосферных микробных сообществ проводили при помощи метагеномного анализа образцов по гену 16S рРНК. Секвенирование проводили на платформе *Illumina* MiSeq. Для анализа полученных данных использовали программу QIIME v. 1.9.1.

Ризосфера *M. falcata* и неризосферная почвы демонстрировали наибольшую относительную обогащенность своих метагеномов геном *alkB*. Численность гена *nah* была максимальной также в ризосфере *M. falcata*, на порядок превышая этот показатель для других растений. Доминиру-



ющее положение в во всех образцах исследуемой нефтезагрязненной почве занимали представители фил *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. На фоне общего рисунка таксономических профилей заметно выделялись ризосферные сообщества *M. falcata* и *E. crus-galli*. В ризосфере *M. falcata* отмечалась значительная доля *Firmicutes*, представленной единственным родом *Bacillus*, а в ризосфере *E. crus-galli* – доля *Gemmatimonadetes*. Индексы Шеннона и Симпсона были минимальным для ризосферного сообщества *M. falcata* и максимальными для ризосферных сообществ злаков. Меньшее таксономическое разнообразие в ризосфере *M. falcata* может быть связано с селективным действием корневых выделений растения на формирование своего ризосферного сообщества, как предполагалось ранее для этого растения и для другого близкого вида – люцерны посевной (*M. sativa* L.).

Полученные результаты обосновывают фиторемедиационную эффективность люцерны серповидной для очистки нефтезагрязненной почвы.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 18-29-05062).

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГОРИЗОНТАЛЬНОГО ПЕРЕНОСА МАГНЕТОСОМНОГО ГЕНОМНОГО ОСТРОВА У МАГНИТОТАКТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ

Надтока М.И.^{1,2, *}, Дзюба М.В.¹, Козяева В.В.¹, Груздев Д.С.¹

¹ Институт биоинженерии, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва

² Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева, Москва,
*maximnadtoka@gmail.com

Магнитотактические бактерии (МТБ) – это группа грамотрицательных прокариот, обитающих преимущественно в водных экосистемах. Ключевой особенностью МТБ является способность к внутриклеточному синтезу наноразмерных магнитных частиц, называемых магнетосомы. Синтез магнетосом обеспечивается набором специфичных генов, организованных в опероны. Данные опероны, в свою очередь, кластеризованы в хромосомном регионе, называемом магнетосомным геномным островом (MAI).

Изучение эволюции такого уникального природного процесса, как внутриклеточная биоминерализация магнетосом, является одной из приоритетных задач для научного сообщества. До сих пор пути эволюции данного механизма изучены относительно слабо. Однако, сформировалось несколько возможных эволюционных сценариев. Один из сценариев предполагает, что способность к синтезу магнетосом была приобретена путем горизонтального переноса генов. Множественные филогенетические реконструкции демонстрируют, что гены биоминерализации могут переноситься горизонтально. Также, был показан горизонтальный перенос магнетосомных генов, произошедший недавно, между различными группами рода *Magnetospirillum*.

Целью данного исследования является создание модели процесса горизонтального переноса магнетосомных генов.

В качестве модельного штамма был выбран *Magnetospirillum magneticum* AMB-1, так как данный штамм является одним из наиболее хорошо изученных. Благодаря сконструированной плазмиде pTrpsGD_LacZ был получен штамм AMB-1_pTrpsGD. Данный штамм получали путем хромосомной интеграции генетической кассеты, несущей ген устойчивости к антибиотик у канамицину (KmR), в регион между основными оперонами биоминерализации *magAB* и *magFDC*. AMB-1_pTrpsGD послужит в качестве штамма-донора MAI в запланированных экспериментах, а делеционный мутант AMB-1, лишенный острова будет выступать в роли реципиента.

Данная работа призвана пролить свет на процесс эволюции механизма бактериальной биоминерализации и создать наглядную модель процесса горизонтального переноса магнетосомных генов.



ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ И ЭКОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ АСТИНОВАСТЕРИИ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ПОЧВ СТЕПНОЙ ЗОНЫ СЕЛЕНГИНСКОГО СРЕДНЕГОРЬЯ

Никитина Е.П.¹, Буянтуева Л.Б.², Абидуева Е.Ю.³

¹ Байкальский институт природопользования СО РАН, Улан-Удэ, lenauude@mail.ru

² Бурятский государственный университет, Улан-Удэ, blb62@mail.ru

³ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, abidueva_l@mail.ru

Актинобактерии представляют собой морфологически разнообразную группу грамположительных бактерий, широко распространенных в различных наземных и водных экосистемах. Они играют важную роль в круговороте органических веществ, способствуя разложению сложных природных полимеров. Многочисленные исследования показали, что они занимают значительное место в комплексе прокариотных организмов почв аридных районов. В связи с этим почвы степной зоны Забайкалья представляют определенный интерес, так как формируются под влиянием климата, отличающегося контрастностью, ярко выраженной засушливостью и континентальностью.

Целью данной работы было выделение представителей актинобактерий из образцов исследуемых почв, определение их таксономического положения и изучение экофизиологических характеристик.

В пределах степной зоны Селенгинского среднегорья было заложено четыре почвенных разреза, пробы почв отобраны согласно генетическим горизонтам. Для культивирования бактерий использовали агаризованные глюкозо-пептонно-дрожжевую и крахмало-аммиачную среды. Таксономическое положение выделенных штаммов определяли с помощью анализа последовательности гена 16S рРНК. Для изолятов были выявлены оптимумы и границы роста по отношению к температуре, pH и солёности. Исследованы возможность использования различных источников углерода и азота, способность к гидролизу крахмала, казеина, желатины, твина и целлюлозы.

По итогам работы была выделена 31 культура актинобактерий. Большинство из них принадлежало к роду *Streptomyces*, также были идентифицированы представители родов *Arthrobacter*, *Glycomyces*, *Kocuria*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Nocardiodides*, *Pseudoarthrobacter*, *Rhodococcus*. Выделенные культуры по отношению к температуре являлись мезофилами, по отношению к pH проявляли свойства нейтрофилии. При определении диапазона и оптимума концентрации NaCl культуры проявляли свойства галотолерантных микроорганизмов. Необходимо отметить, что большинство выделенных культур имело широкие диапазоны роста относительно исследованных параметров среды. Практически все штаммы были способны использовать моносахариды, большинство способно было расти на средах с дисахаридами и спиртами. Для большинства штаммов отмечена способность к гидролизу крахмала, казеина, желатины, твина-80. Менее половины культур показали способность к использованию солей органических кислот и разложению целлюлозы. Способность использовать соли аммония и нитраты в качестве источника азота выявлена практически у всех культур. Образование аммиака и сероводорода в процессе разложения аминокислот наблюдалось у большинства культур. Мочевину в качестве источника азота использует лишь треть выделенных культур актинобактерий.

Таким образом, проведенные исследования почв степной зоны Селенгинского среднегорья позволили выделить и идентифицировать представителей филой *Actinobacteria*, принадлежащих к девяти родам. Способность к использованию различных субстратов, а также широкие диапазоны роста культур указывают на то, что выделенные бактерии играют важную роль как деструкторы органического вещества, а также имеют адаптационные возможности к постоянно изменяющимся условиям среды.



РАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ ПЛОСКОБУГРИСТЫХ ТОРФЯНИКОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ (НА ПРИМЕРЕ КЛЮЧЕВОГО УЧАСТКА ХАНЫМЕЙ)

Никиткин В.А., Никиткина Э.Г., Луцаева И.В., Колесниченко Л.Г.

Лаборатория биоразнообразия и экологии НИИББ ТГУ, viktor_nikitkin@mail.ru
Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск

В настоящее время экосистемы севера Западной Сибири являются подверженными воздействию глобальных и локальных факторов окружающей среды, оказывающих непосредственное влияние на биогеохимический цикл углерода и, в свою очередь, на уровень концентрации важнейших парниковых газов. Повышение температуры многолетней мерзлоты, сопровождаемое размораживанием и высвобождением захороненного органического углерода, является одним из элементов сценария глобального изменения климата. В Западной Сибири, так же как и в других регионах, подверженных действию многолетней мерзлоты, наблюдается ускорение деградации плоскостойких болот (пальзы). По сравнению с большим количеством работ, посвященных биогеохимии CO₂ и CH₄ в почвах и водах мерзлотной зоны, относительно мало данных о микрофлоре криолитозоны севера Западной Сибири, и до сих пор остается нерешенным вопрос о влиянии микроорганизмов на глобальные климатические изменения. В связи с этим целью нашей работы явилось изучение разнообразия микроорганизмов плоскостойких торфяников Западной Сибири на примере ключевого участка «Ханымей».

В представленной работе мы приводим результаты исследования образцов вечномёрзлых отложений, которые были отобраны в 2017 году на территории ключевого участка «Ханымей», располагающегося в Ямало-Ненецком автономном округе Западной Сибири.

Было показано, что исследованная мерзлотная почва на участке «Ханымей» представлена довольно низкой численностью микроорганизмов всех исследованных эколого-трофических групп. Она постепенно снижается с глубиной и имеет схожую тенденцию к уменьшению или увеличению численности микроорганизмов по всей глубине профиля. Было отмечено, что для поддержания своей жизнедеятельности, микроорганизмы используют схожий состав питательных субстратов во всех исследованных образцах торфа, к ним относятся углеводы, оксикарбоновые кислоты, полимерные соединения и в некоторых случаях аминокислоты.

Изучение микробоценозов по профилю мерзлотной торфяной почвы северной тайги участка Ханымей показало, что изученные вечномёрзлые почвы имеют схожую закономерность распределения микроорганизмов различных трофических групп по профилю. Зонай оптимума для всех эколого-трофических групп является активный слой.

СУКЦЕССИЯ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА АКТИВНОГО ИЛА, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩЕГО ПРОЦЕСС АНАММОКС В ЛАБОРАТОРНОМ БИОРЕАКТОРЕ

Николаев Ю.А., Грачев В.А., Каллистова А.Ю., Марданов А.В., Равин Н.В., Берестовская Ю.Ю., Канапацкий Т.А., Пименов Н.В.

Институт микробиологии им. С.Н.Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, NikolaevYA@mail.ru

Анаммокс-процесс, окисление аммония нитритом в бескислородных условиях (*anaerobic ammonia oxidation*), является важным биохимическим энергодающим процессом, реализуемым бактериями-планктомицетами порядка *Candidatus Brocadiales*. Этот процесс обеспечивает до 70% круговорота азота на Земле, а также является основой важнейшей биотехнологии удаления азота из сточных вод. Для реализации процесса анаммокс в природных и техногенных экосистемах наряду с аммонием необходимы нитриты. Поэтому обычно наряду с собственно анаммокс-бактериями происходит развитие нитрификаторов первой стадии, которые не только поставляют нитриты, но и снижают уровень кислорода, обеспечивая развитие анакисидных условий для процесса анаммокс.



Анаммокс-процесс в настоящее время детально исследован (биохимия, генетика, микробиология, технологические аспекты, геохимия), однако, слабоизученными остаются фундаментальные аспекты взаимоотношений микроорганизмов внутри анаммокс-сообществ, зависимость от факторов внешней среды, возможность их регулирования в технологических системах.

Для культивирования анаммокс-сообщества был сконструирован биореактор с рабочим объемом 9 л, цилиндрической формы с отношением высота/диаметр 6/1; материал реактора - полиметилметакрилат; способ удержания биомассы (активного ила) – фиксация на нетканом материале из полиэтиленовых нитей типа Поливом (ООО «Этек», Калуга), расположенном по внутренней стенке реактора. По режиму работы реактор является SBR-реактором (sequencing-batch reactor), т.е. реактором циклического отъёмно-доливного типа. Рабочий цикл, продолжительностью 6 ч, состоял из фаз: отстаивания, слива части обработанной жидкости и долива свежей среды, аэрации. Реактор инокулирован активным илом из полупромышленного реактора, реализующего процесс анаммокс для очистки фильтрата от обезвоживания сброженного осадка сточных вод на Люберецких очистных сооружениях АО «Мосводоканал». Питательная среда, подаваемая в реактор, имитировала этот фильтрат и содержала аммоний, основные минеральные компоненты и дополнительные органические вещества. В ходе культивирования поддерживали температуру $30(\pm 2)^{\circ}\text{C}$ и концентрацию кислорода 0,4-0,6 мг/л.

Период адаптации микробного сообщества к новым условиям составил 70 суток, в течение последующих 30 сут наблюдали экспоненциальный рост активности анаммокс-бактерий со временем удвоения 23 суток, после чего было достигнуто состояние плато (steady-state) максимальной эффективности удаления азота (90%). Метагеномный анализ образцов активного ила, проведенный на стадиях запуска и работы реактора, позволил выявить доминирующие группы микроорганизмов сообщества, а также изменение его состава в ходе адаптации и роста в реакторе. Обсуждается возможность направленного конструирования и поддержки устойчивых анаммокс-сообществ в SBR-реакторе.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-29-08008).

СОЗДАНИЕ НОВЫХ БИОКОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОГО СЫРЬЯ И БИОСВЯЗУЮЩЕГО, СОДЕРЖАЩЕГО ПОЛИСАХАРИД ЛЕВАН

Новокупцев Н.В., Ревин В.В.

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарёва», Саранск, dep-general@adm.mrsu.ru; dep-mail@adm.mrsu.ru, nikolay.novokuptsev@yandex.ru

Существует проблема по получению материалов из лигноцеллюлозного сырья, обладающих экологической безопасностью и биоразлагаемостью, перспективным решением которой является замена синтетических токсичных смол и клеев полисахаридами, полученных микробиологическим синтезом. Одним из таких полисахаридов является леван, который обладает уникальными свойствами, в частности адгезивными. Поэтому целью являлось получение биокomпозиционных материалов на основе отходов древесного сырья с использованием экологически безопасного биологического связующего, содержащего микробный леван, соответствующих требованиям стандартов по экологичным и эксплуатационным характеристикам.

Оптимизированы процессы получения культуральной жидкости с леваном с целью увеличения его выхода и режимы прессования биокomпозиционных материалов для улучшения их физико-механических характеристик. В результате проведены методы определения физико-механических и физико-химических свойств культуральной жидкости, полисахарида левана и биокomпозиционных материалов.



Микробный леван получен в результате культивирования *Azotobacter vinelandii* Д-08 на дешевой питательной среде, состоящей из отходов пищевой промышленности, выход которого составил 14,3-17,7 г/л. В итоге методами ИК-спектроскопии и компьютерной томографии установлены химические и структурные изменения, происходящие в результате горячего прессования лигноцеллюлозного сырья и биосвязующего с леваном. При этом значение прочности биокompозита 32,4 МПа, плотности 1443,5 кг/м³, водопоглощения и разбухания по толщине 7,2 и 14,9%.

Биокompозиционные материалы могут быть использованы в качестве конструкционных, облицовочных и теплоизоляционных панелей; в производстве мебели; при получении новых видов биоразлагаемой тары, контейнеров, упаковки и др.

НИР по теме исследования выиграла конкурс на получение Стипендии Президента РФ для молодых ученых в 2018-2020 гг. (СП – 3110.2018.1).

НОВЫЙ ШТАММ *LACTOBACILLUS FERMENTUM* HF-D1 – ПРОДУЦЕНТ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ

Павлова А.С.¹, Ожегов Г.Д.², Арапиди Г.П.³, Яруллина Д.Р.¹, Каюмов А.Р.¹

Казанский Федеральный Университет, НИЛ «Молекулярная генетика микроорганизмов»
Казань, Anbio96@yandex.ru

Пермская государственная фармацевтическая академия, Кафедра промышленной
лекарственной технологии и биотехнологии, Пермь

Институт биоорганической химии им. Шемякина-Овчинникова РАН, Москва

Антимикробные пептиды (АМП) являются привлекательными веществами для лечения бактериальных инфекций с множественной лекарственной устойчивостью. Целью данной работы является выделение, идентификация и оценка антимикробной активности пептидов, секретируемых *L. fermentum* HF-D1.

Методы: выделение лактобацилл из фекалий человека, осаждение пептидов сульфатом аммония, оценка антибактериальной активности методом диффузии в агаре, идентификация изолята на Bruker Biotyper, секвенирование 16S рПНК, LC-MS/MS анализ пептидов, предсказание антимикробной активности пептидов *in silico*.

Из фекалий здоровых индивидуумов было отобрано 40 изолятов молочнокислых бактерий, один из которых демонстрировал высокую антагонистическую активность в отношении *B. cereus*, *K. pneumonia*, *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, которая была сопоставима или даже выше чем у пробиотического штамма *L. plantarum* 8PA-3. Результаты MALDI-TOF масс-спектрометрии рибосомных белков позволили идентифицировать изолят HF-D1 как *L. fermentum* (оценка 2,007). Выравнивание последовательности гена 16S рПНК изолята HF-D1 показало 99,9% идентичности с *L. fermentum* YL-11 (GenBank: CP034193.1). Проведено short-gun секвенирование генома данного изолята и получены scaffold-последовательности размером 200-1200 т.п.о. В преципитате культуральной жидкости, полученного высаливанием 80% (NH₄)₂SO₄, обнаружена выраженная активность против *S. marcescens* и *P. aeruginosa*, подтверждающая присутствие АМП в осадке. Идентификация пептидов с помощью LC-TripleTOF-MS/MS с использованием генома *L. fermentum* YL-11 в качестве референсного позволила идентифицировать 1111 пептидов. Предварительный анализ *in silico* по массе, рI и заряду позволил исключить 994 из 1111 пептидов. Оставшиеся пептиды анализировали с использованием алгоритмов AMPA, ADAM и CAMPR3 для предсказания потенциальной антимикробной активности. В результате были отобраны два пептида (VGAVAFGPVGAVVGGLASGFTGKQT, ANKLLTSIIAGAMLLSLAAC SSN) с наибольшей суммой значений по всем алгоритмам, что позволяет говорить о высокой вероятности их антимикробной активности, однако требуется дальнейшее изучение их свойств *in vitro*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект РФФИ-17-00-00456).



ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ АНАЭРОБНОГО ОКИСЛЕНИЯ НЕФТИ В ДОННЫХ ОСАДКАХ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Павлова О.Н., Новикова А.С., Черницына С.М., Изосимова О.Н., Горшков А.Г.

ФГБУН Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук,
Иркутск, pavlova@lin.irk.ru

На оз. Байкал известны два района естественных нефтепроявлений, один расположен в устье р. Большая Зеленовская (БЗ) и известен с конца 18 века; второй – у м. Горевой Утес (ГУ) (открыт в 2005 г.). Нефть, собранная в момент ее выхода на водную поверхность в районе ГУ в 2005 г., характеризовалась экстремально высоким содержанием н-алканов и была идентифицирована как не биodeградирующая парафинистая нефть. В настоящее время химический анализ состава нефти свидетельствует о ее биodeградации. Вместе с тем остается открытым вопрос о роли анаэробных микроорганизмов в процессах деструкции нефти в донных отложениях. Расположение оз. Байкал в тектонически активной зоне обуславливает не только поступление углеводородов, но и минерализованных флюидов с повышенными концентрациями ионов, необходимых для протекания процессов анаэробного окисления нефти. С этими же процессами связано поступление в поверхностные осадки термофильных прокариот [Павлова и др., 2019].

Для получения накопительных культур, донные осадки отбирали в районе ГУ: 10–30 см (I); 100–120 см (II); БЗ: 40–50 см (III), соответствующих глубине керна. Культивирование микробного сообщества проводили на минеральной среде с добавлением нефти при температуре 10°C и 60°C: в атмосфере $H_2:CO_2$, а также на среде содержащей сульфат ион в атмосфере $N_2:CO_2$. О степени утилизации нефти микробным сообществом в психрофильных условиях судили по убыли н-алканов определяемых методом хромато-масс-спектрометрии [Горшков и др., 2010] через 6 месяцев культивирования. Для проведения анализа клональных библиотек накопительных культур было отобрано по 15 клонов с фрагментами последовательностей гена 16S рРНК из каждого образца.

В термофильных накопительных культурах (I) и (III) численно преобладали последовательности бактерий рода *Desulfotomaculum/Desulfofundulus*, имеющие 97–99% сходства с таковыми бактерий *D. lucia* DSM12396, *D. kuznetsovii* DSM6115, *D. salinum* и некультивируемыми представителями рода *Desulfotomaculum*. Одна последовательность из накопительной культуры (III) была близка представителям порядка *Thermoanaerobacterales*. Библиотека психрофильной накопительной культуры (I) состояла из последовательностей, которые на 97–99% были гомологичны некультивируемыми представителям филумов *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Armatimonadetes* и *Chloroflexi*. В библиотеке накопительной культуры (II) выявлены последовательности некультивируемых бактерий из сред, загрязненных нефтью и осадков, вмещающих газовые гидраты. Более высокий процент убыли н-алканов в анаэробных условиях зафиксирован в накопительной культуре (II) при культивировании в атмосфере $H_2:CO_2$.

В результате проведенных исследований в психрофильных накопительных культурах с нефтью выявлено большее филогенетическое разнообразие бактерий, которые в основном представлены некультивируемыми микроорганизмами. В термофильных условиях доминирующее положение занимают сульфатредуцирующие бактерии. Вероятно, микробные сообщества глубинных слоев донных осадков более ориентированы на анаэробные процессы деструкции нефти, о чем свидетельствует степень конверсии н-алканов. Исследования выполнены в рамках государственного задания по теме № 0345–2019–0007.



АСПЕКТЫ МЕТАЛЛОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У СУЛЬФОБАЦИЛЛ

Панюшкина А.Е.¹, Бабенко В.В.²

¹ФИЦ Биотехнологии РАН Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва, info@fbras.ru; zhuravleva-inmi@mail.ru

²ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального Медико-биологического Агентства, Москва, info@rcpctm.org

Ацидофильные хемолитотрофные микроорганизмы (АХМ), благодаря способности к окислению Fe^{2+} , S^0/S^{2-} и MeS , представляют практическую значимость для биотехнологий извлечения цветных и благородных металлов. Сульфобациллы окисляют все перечисленные субстраты и доминируют в составе сообществ АХМ в природных и техногенных местообитаниях, а также процессах биовыщелачивания. Многие АХМ резистентны к высокому содержанию тяжёлых металлов в среде, однако механизмы их экстремальной устойчивости исследованы недостаточно.

Целью работы было изучить особенности металлорезистентности у сульфобацилл. Термотолерантную сульфобациллу культивировали на среде 9K, содержащей Fe^{2+} . Ряд вариантов выращивали в присутствии 250–1000 мМ Zn^{2+} или сульфидного концентрата золотосодержащей руды. Содержание металлов в клетках измеряли масс-спектральным и атомноэмиссионными методами с индуктивно-связанной плазмой. Для определения компонентов систем резистентности проводили функциональную характеристику генома (сервис KOALA) и сравнение геномов сульфобацилл (NCBI Blast, OrthoFinder и Mauve). Филогенетические деревья строили в программе MEGA7.

Показано, что механизмы металлорезистентности у термотолерантной сульфобациллы отличаются от таковых у других сульфобацилл. Так, некоторые детерминанты металлоустойчивости у данной сульфобациллы локализованы на интегрированной в хромосому плазмиде, в то время как для АХМ их локализация на внехромосомных элементах не характерна, а большинство плазмид АХМ являются криптическими. Две сульфобациллы обладают полифосфатным механизмом металлорезистентности, который ранее у грамположительных АХМ известен не был. Клетки сульфобациллы отличались высоким уровнем аб- и адсорбции тяжелых металлов.

Выявленные особенности обуславливают конкурентное преимущество сульфобациллы в микробных сообществах промышленных процессов, а также сообществах АХМ природных и антропогенных экосистем.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ.

ПСИХРОАКТИВНЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCLUS*

Пелевина А.В.¹, Берестовская Ю.Ю.², Борзенков И.А.², Васильева Л.В.²

¹ ФГБОУ ВО РГАУ - МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, info@rgau-msha.ru

² ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, Москва, inmi@inmi.ru

Добыча ископаемого топлива в России происходит в основном в северных регионах и приводит к загрязнению этих экстремально холодных экосистем токсичными и канцерогенными соединениями. Их самоочищение в суровых климатических условиях за счёт собственной микрофлоры длится десятки лет. Для ускорения очистки почвенных и водных систем от нефти и нефтепродуктов широко используются биопрепараты на основе углеводородоокисляющих бактерий. В основном в коммерческие препараты входят мезофильные представители углеводородоокисляющих микроорганизмов с оптимальными температурами для роста – (28–30°C). В связи с этим выделение новых психрофильных и психроактивных бактерий, окисляющих ксе-



нобиотики сложной органической природы в холодных климатических условиях является важной микробиологической задачей.

Цель настоящего исследования – выделить и изучить представителей микробных сообществ почвы, способных к окислению нефти при низких значениях температур. Источниками выделения была загрязнённая углеводородами почва Московской области, а также почвы тундры Аляски и Воркуты. В ходе исследования были выделены 3 штамма углеводородокисляющих бактерий: T-1801, Z-1201 и Z-1202.

Бактерии были аэробными гетеротрофами и использовали в качестве источников углерода и энергии широкий спектр органических субстратов: сахара, спирты, аминокислоты, соли органических кислот. Из сложных органических соединений все организмы использовали пирокатехин и нефть в качестве субстрата. Анализ нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК выделенных штаммов показал, что они имели высокие уровни сходства (99.1-99,5%) с типовым видом рода *Rhodococcus* – *R.erythropolis*. Фенотипические характеристики новых бактерий имели ряд отличий от типового штамма по набору используемых субстратов, диапазону и оптимумам pH и температурного роста. Штаммы T-1801, Z-1201 и Z-1202 имели оптимумы pH роста при 9.6; 7.6 и 7.0 соответственно. Наибольший температурный диапазон роста и окисления нефти показан для штамма T-1801 ((-1) – (+37)°C). Штаммы Z-1201 и Z-1202 росли и окисляли нефть в более узком диапазоне от 5 до 30°C. Количество нефти и состав потребленных фракций для штаммов отличались при разных температурах. При 30°C штамм T-1801 потреблял нефть в 1,4 раза меньше, чем штаммы Z-1201 и Z-1202 (88%). При 5°C потребление нефти штаммами Z-1201 и Z-1202 снизилось в 2.7 раза и составило 33%, а штамм T-1801 окислял нефть с той же активностью, как и при 30 °C. Исследование потребления нефти при температуре (-1)°C показало, что только штамм T-1801 был способен к её окислению при этой температуре, несмотря на то, что скорость окисления снижалась в 3 раза по сравнению с 5°C.

Таким образом, из почв разных местообитаний были выделены психроативные представители углеводородокисляющих бактерий рода *Rhodococcus* с высокими уровнями сходства с типовым штаммом *R. Erythropolis*, способные к окислению нефти при (-1) – (+5) °C.

АДАПТАЦИОННАЯ РОЛЬ ФОТООБРАЗОВАНИЯ ВОДОРОДА В КЛЕТКАХ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII* В УСЛОВИЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ГОЛОДАНИЯ

Петрова Е.В., Кукарских Г.П., Кренделева Т.Е., Антал Т.К.

Одноклеточная зеленая водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* является модельным объектом для изучения множества физиологических и метаболических процессов. Одной из отличительных черт данной водоросли является способность к образованию молекулярного водорода в анаэробных условиях в темноте и на свету. Этот процесс связан с активностью фермента FeFe-гидрогеназы, который локализован в хлоропласте и взаимодействует, в основном, с фотосинтетическим ферредоксином PETF. Принимая во внимание тот факт, что образование водорода связано с фотосинтетическим электронным транспортом и ингибируется в присутствии кислорода, можно предположить, что гидрогеназа может играть физиологическую роль в специфических условиях, таких, как минеральное голодание, которое индуцирует анаэробные условия в культуре при сохранении активности световых реакций фотосинтеза.

Целью работы являлось исследование роли гидрогеназы при адаптации культуры *C. reinhardtii* к условиям минерального голодания. Для этого сравнивали динамические изменения параметров культуры в контрольном штамме CC-425 и его мутанте HydEF без гидрогеназной активности в условиях инкубации без серы. Среди измеряемых параметров были: жизнеспособность культуры, фотосинтетическая активность, содержание хлорофилла, крахмала, АТФ, и продуктов брожения. В ходе инкубации без серы культура проходила через аэробную и анаэробную стадию.



Показано, что присутствие активной гидрогеназы на анаэробной стадии серного голодания повышает жизнеспособность культуры, стабилизирует фотосистему II и ускоряет анаэробную деградацию крахмала. Клетки мутанта вырабатывали большее количество таких продуктов брожения как формиат и этанол, и меньшее количество ацетата по сравнению с родительским штаммом. При этом содержание АТФ было выше в мутантных клетках, что, возможно, указывает на снижение метаболической потребности в энергии и на ускоренное фотофосфорилирование за счет циклического электронного транспорта вокруг фотосистемы I в клетках без гидрогеназной активности.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что активная гидрогеназа улучшает адаптационные возможности клетки в условиях минерального голодания за счет регуляции количества внутриклеточного восстановителя, что поддерживает активность фотосинтетических реакций (фотосистемы 2), гликолиза за счет реокисления НАДН в строме, а также изменения баланса между путями брожения.

Ключевые слова: Микроводоросли, Гидрогеназа, Фотопродукция водорода, Адаптация

НОВЫЙ БАКТЕРИОФАГ БАКТЕРИЙ ГРУППЫ *BACILLUS CEREUS*

Пилигримова Э.Г., Казанцева О.А., Никулин Н.А., Шадрин А.М.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
Пущино, e.pilgrimova@ibpm.ru

Введение. Бактериофаги (фаги) – это вирусы, которые заражают бактерии. Фаги широко используется для разработки антибактериальных препаратов, диагностических систем и доставки лекарственных средств. Для более эффективного использования бактериофагов в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве и пищевой промышленности необходимо их изучение с использованием полногеномного секвенирования. В этой работе мы представляем новый умеренный бактериофаг, заражающий бактерии группы *Bacillus cereus*.

Методы. Бактериофаг был выделен из хозяйского штамма *B. Thuringiensis* методом индукции митомицином С и очищен с помощью нескольких циклов экстракции бляшек и титрования. Препарат с высоким титром получали на чувствительном штамме *B. Cereus* с помощью осаждения полиэтиленгликолем 8000. Концентрированную суспензию фага использовали для изучения морфологии с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и определения диапазона чувствительных штаммов среди 30 представителей группы *B. Cereus*. ДНК бактериофага выделяли из препарата методом фенол-хлороформной экстракции и секвенировали с использованием технологии *Illumina HiSeq 2500*. Сборку генома из ридов осуществляли с помощью SPAdes, поиск генов и их аннотацию выполняли с использованием RAST и BLASTP. Для филогенетического анализа использовали программу MEGA.

Результаты. Помимо хозяйского штамма *B. thuringiensis*, бактериофаг заражает узкий спектр хозяев (только 3 штамма *B. cereus*). По результатам электронной микроскопии, он имеет удлиненный капсид и длинный гибкий хвост, что указывает на его принадлежность к семейству *Siphoviridae*. Геном фага среднего размера (≈ 50 тпн) и кодирует гены репликации, модификации и упаковки ДНК, морфогенеза, лизиса клетки, поддержания профага и регуляции лизис-лизогения. Сравнительный анализ последовательности полного генома и предсказанного протеома, а также филогенетический анализ больших субъединиц терминаз выявили несколько родственных фагов, которые относятся к неклассифицированным вирусам и вместе с изученным нами бактериофагом могут представлять новый род.

Выводы. Таким образом, выделенный и изученный в рамках данной работы новый умеренный бактериофаг, заражающий *B. thuringiensis* и *B. cereus*, может представлять новый род семейства *Siphoviridae*.



ПРОКАРИОТНЫЕ СООБЩЕСТВА ТОРФОЗЕМОВ ДОЛИНЫ РЕКИ ЯХРОМА

Поздняков Л.А.^{1,2}, Кузюбердина Д.А.¹, Ямалиева Д.И.¹, Дуброва М.С.²

1 - Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, кафедра биологии почв, Москва

2 - ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мелиорированных земель», Тверская область, Калининский район, п. Эммаусс
APL-223@mail.ru

Эутрофные торфяные почвы нечерноземной зоны России представляют большой практический интерес, поскольку после рациональных мелиоративных мероприятий они превращаются в весьма плодородные сельскохозяйственные угодья. Длительное их использование, однако, приводит к деградации и снижению плодородия. Микробиологическая сторона этой проблемы остается малоизученной, поэтому целью данной работы стало исследование состава и физиологической активности прокариотных сообществ осушенных торфяных почв.

Работа проводилась в долине реки Яхромы (Яхромская пойма) в Дмитровском районе Московской области. Территория отличается сложной структурой почвенного покрова и занята торфоземами, имеющими различный ботанический состав, а также торфоземами агроминеральными на прилегающих к реке участках. Осушение производилось в два этапа: в 1906-1914 и 1961-1965 годах. Методами газовой хроматографии оценивалась активность базального (БД) и субстрат-индуцированного (СИД) микробного дыхания, метаногенеза (МГ), азотфиксации (АФ) и денитрификации (ДФ). Состав сообществ изучался методом FISH на уровне типов и отдельных классов.

Максимальные значения БД, СИД и ДФ отмечены в центральной части поймы, занятой древесными торфами. МГ и АФ достигали своего максимума в притеррасной части с осоково-гипновыми торфами в местах выхода грунтовых вод. В почвенном профиле отмечено увеличение БД, СИД и ДФ на границе залегания грунтовых вод, где после осушения происходит аккумуляция зольных элементов и подвижной органики.

Значительную долю бактериального сообщества занимают малоизученные группы: *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*. Доля *Planctomycetes* растет при движении к руслу реки, хотя в том же направлении улучшается дренированность почв, а влажность снижается. Археи составляет 5-15% в торфяных почвах притеррасной части поймы и 20-25% в центральной ее части. Среди них преобладают *Crenarchaeota* и *Thaumarchaeota*, в особенности в нижней части почвенного профиля. Развитие *Thaumarchaeota* и *Betaproteobacteria* коррелирует с повышенной активностью нитрификации, а *Gammaproteobacteria* и, возможно, *Verrucomicrobia* связаны с работой окислительного фильтра, перехватывающего биогенный метан.

В почвах осоково-гипнового ботанического состава доля *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Firmicutes* остается стабильной или растет с увеличением глубины, в почвах древесного ботанического состава их доля с глубиной снижается. В переуплотненной средней части профиля торфяных почв, используемых под пашню (в том числе в плужной подошве) развитие получают *Deltaproteobacteria*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria* и *Thaumarchaeota*; а *Gammaproteobacteria* подавлены.

Таким образом, наибольшие различия в составе и активности прокариотных сообществ наблюдаются между почвами различного положения в ландшафте, происхождения и состава. Влияние длительной распашки не столь значительно и проявляется в изменении численности отдельных групп прокариот.



КОРНЕВЫЕ ВОЛОСКИ ЯЧМЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*HORDEUM VULGARE* L.)

Полянская Л.М.¹, Пинчук И.П.²

¹МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, lpolyanskaya@mail

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ Пущинский
Научный центр биологических исследований РАН

Немаловажную роль в физиологических процессах корневых систем играют корневые волоски. Они представляют собой выросты эпидермиальных клеток корня. Срок жизни корневых волосков зависит от концентрации питательных веществ и вида растения и может составлять как несколько часов, так и несколько дней. Диаметр, размеры и густота различаются у различных видов. Количество волосков может быть от 0 до 500 на мм² корневой поверхности. А их вклад в размеры корневой поверхности и биомассу корней может быть различным, от 0,2 до 70-100% в расчете на корневую поверхность. Основная функция корневых волосков заключается в поглощении питательных веществ и воды из почвы. Также, выделяя экссудаты, они способствуют усвоению труднорастворимых соединений, в частности, фосфатов, трансформируя их в легкоусвояемые формы. Представление о морфологии корневых волосков можно получить путем создания колонок с разделением почвы и корневой системы при помощи нейлонового экрана; замороженные жидким азотом участки почвы с корневыми волосками исследуются на предмет их расположения в пространстве. Размеры корневых волосков вычисляются при изучении участков корневой системы при помощи светового микроскопа с последующим фотографированием. Морфологические характеристики корневых систем растений могут быть применимы в решении различных проблем, так знание изменений корневых систем позволяет оценивать морфологию и структуру растения, а изучение динамики поглощения и распределения корнями питательных веществ, влияние на развитие растения обработки семян биостимуляторами, водоснабжение корневой системы, проводить сравнительный анализ сортов, а так же выявлять заражения корней грибами и бактериями. Корневые волоски нами были исследованы с применением методов выращивания растений на питательных растворах. Семена растения (ячмень обыкновенный) были пророщены в термостате при температуре 28°C. На четвертые сутки проростки, в отдельных сосудах, при комнатной температуре, были помещены в контейнер с 6% раствором Кнопа с постепенным повышением его концентрации. Изображения корневых волосков были получены при помощи микроскопа «Биооптик В-300» и подключенной к нему видеокамеры «ЛОМО». Характеристики корневых волосков (длина и радиус) были измерены при помощи программы Universal Desktop Ruler 3.7, в качестве шкалы измерения было использовано изображение линейки объект-микрометра (используемый участок имел длину 760 мкм). Площадь поверхности корневого волоска вычисляли по формуле цилиндра. В процессе вегетации растения, площадь корневой поверхности увеличивалась за счет площади корневых волосков на 30%.

ПРОКАРИОТЫ КАК ИСТОЧНИК НЕФТЯНЫХ УГЛЕВОДОРОДОВ КАЛЬДЕРЫ ВУЛКАНА УЗОН

Пошибаева А.Р.*, Гируц М.В., Гаянова А.А., Перевалова А.А.,
Бонч-Осмоловская Е.А., Гордадзе Г.Н.

Введение. Изучению нефтепроявлений кальдеры вулкана Узон посвящены многие работы. Ученые полагают, что кальдера вулкана Узон (Камчатка, Кроноцкий заповедник) представляет собой уникальную природную лабораторию современного образования нефти, возраст которой не превышает 50 лет. Первоначально предполагалось, что нефть Узона образовалась за счет абиогенного синтеза, а позднее было высказано предположение, что она образовалась за счет переработки липидов высшей наземной растительности и простейших водорослей. Наши



результаты исследований углеводородного состава нефтепроявлений согласуются с предыдущими авторами лишь тем, что по распределению углеводородов (УВ) органическое вещество (ОВ) является слабопреобразованным. Известно, что кальдера вулкана Узон представляет собой своего рода «музей микробов», где на термальных полях и в горячих источниках обитают самые разнообразные прокариотические организмы. Ранее нами, из биомассы прокариот, в частности, бактерий *Arthrobacter sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Geobacillus jurassicus* и архей *Thermoplasma sp.* были получены нефтяные УВ-биомаркеры.

Цели и методы исследования. Целью данной работы было установление источника нефтепроявлений кальдеры вулкана Узон.

На относительно небольшой нефтяной площадке кальдеры вулкана Узон (Камчатка, Кроноцкий заповедник) были отобраны образцы грунтов, залегающих при разных температурах – от 35 до 65°C. Методом высокопроизводительного секвенирования 16S рРНК выявлены два типа микробных сообществ. Анализ углеводородов проводили методом хроматомасс-спектрометрии.

Результаты и обсуждение. В растворимой части и продуктах термоллиза ОВ грунтов были найдены нефтяные УВ-биомаркеры (н-алканы, изопренаны, н-алкилциклогексаны, стераны и терпаны). По закономерностям распределения углеводородов-биомаркеров, как в растворимой, так и продуктах термоллиза нерастворимой части ОВ пород, выделены четыре типа слабопреобразованного органического вещества и показана их непосредственная связь с найденным прокариотным разнообразием. Некоторые несоответствия в распределении углеводородов между растворимой и продуктами термоллиза нерастворимой частью прокариот можно объяснить перетоками жидких углеводородов между образцами. Скорее всего, выделение третьего и четвертого типов органического вещества по распределению углеводородов обусловлено именно этим фактором.

Закключение. Таким образом, источниками органического вещества Нефтяной площадки (так называемой «молодой нефти») является прокариотное разнообразие.

Ключевые слова. Молодая нефть, кальдера вулкана Узон, бактерии, археи, термоллиз, углеводороды-биомаркеры, хроматомасс-спектрометрия.

ПЕРВЫЙ АВТОТРОФНЫЙ КАРБОКСИДОТРОФНЫЙ ШТАММ РОДА THERMUS

Провоторова Е.А., Черных Н.А., Лебединский А.В., Соколова Т.Г.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского
Москва

СО – один из важных малых газов атмосферы, его значение определяется вкладом в парниковый эффект. Постоянная концентрация СО в атмосфере поддерживается его потреблением почвенной микрофлорой и в окислительных фотохимических реакциях с радикалом ОН в тропосфере. Многие микроорганизмы используют СО как источник энергии. СО окисляющие термофильные микроорганизмы представлены в основном анаэробными видами. Аэробных термофилов, растущих на СО известно немного. В то же время в гидротермальных источниках – естественных местах обитания термофильных прокариот – где СО поступает с вулканическими газами и образуется в результате термического разложения органики, концентрация СО может достигать относительно высоких значений, что создает условия для СО окисляющих как анаэробных так и аэробных термофильных прокариот.

Из воды и ила горячего источника острова Кунашир на минеральной среде в атмосфере смеси воздуха, СО и СО₂ (8:1:1) был выделен термофильный аэробный СО окисляющий штамм PS18. Новый изолят рос аэробно как на СО так и на смеси воздуха с Н₂ и СО₂. Жидкая минеральная среда не содержала дополнительных источников углерода.

Анализ 16 S рРНК показал, что новый изолят PS18 принадлежит к виду *Thermus scotoductus*. Был сделан полногеномный сиквенс штамма PS18.



Анализ генома показал наличие генов, кодирующих ферменты цикла Кальвина, как это характерно для карбоксидобактерий, в том числе RuBisCo первой формы. Штамм PS18 первый представитель рода *Thermus* показавший способность к автотрофному росту.

Благодарности. Работа была частично поддержана РФФ №17-74-30025

РОЛЬ МНОЖЕСТВЕННЫХ АРХЕЛЛИНОВЫХ ГЕНОВ В ФОРМИРОВАНИИ СТРУКТУРЫ ЖГУТИКОВ ГАЛОФИЛЬНЫХ АРХЕЙ

Пятибратов М.Г.^{1*}, Сюткин А.С.¹, Квакс Т.Е.Ф.², Мельник Т.Н.¹, Галева А.В.¹, Федоров О.В.¹

¹Институт белка РАН, Пущино; University of Freiburg

²Faculty of Biology, Microbiology, Sch nzelestrasse , 79104 Freiburg im Breisgau, Germany;
bratov@vega.protres.ru

Археллум (архейный жгутик) – это уникальная органелла подвижности, которая имеет лишь функциональное сходство с бактериальным аналогом. Внеклеточный филамент археллы состоит из тысяч копий белкового протомера – археллина. У большинства эвриархей имеется несколько копий археллиновых генов, и их роль остаётся неясной. Галофильные археи из группы *Halorubrum* характеризуются наличием единственного оперона из двух генов археллина flaB1 и flaB2. Аминокислотные последовательности археллинов FlaB1 и FlaB2 существенно отличаются друг от друга и имеют только около 40% идентичных остатков. Задачей нашей работы было выяснить роль каждого из археллинов.

Мы сравнили археллы двух природных штаммов *Halorubrum lacusprofundi*: штамма DL18 с двумя археллиновыми генами и типового штамма ACAM 34, геном которого содержит только ген flaB2. Кроме того, мы экспрессировали археллины *Hrr. lacusprofundi* в штамме *Haloferax volcanii*, из которого были удалены эндогенные гены археллинов. Для сравнительного изучения синтезируемых структур использовали методы электрофореза, электронной микроскопии, сканирующей микрокалориметрии и ограниченного протеолиза.

Было показано, что оба природных штамма синтезируют функциональные археллы, при этом штамм DL18, где оба археллина представлены в сопоставимых количествах, более подвижен. С помощью гетерологичной экспрессии мы получили три типа рекомбинантных филаментов, состоящих только из одного (FlaB1 / FlaB2) или обоих археллинов *Hrr. lacusprofundi*. Все три штамма *Hfx. volcanii*, экспрессирующие археллины, были подвижными, что указывает на функциональность рекомбинантных архелл. Электронная микроскопия показала, что FlaB1FlaB2-археллы выглядят как типичные суперспиральные филаменты по сравнению с FlaB1- и FlaB2-археллами, форма которых более изменчива. Как нативные, так и рекомбинантные двухкомпонентные филаменты отличаются повышенной термостабильностью и более устойчивы к воздействию пониженной солености, чем однокомпонентные филаменты. Полученные данные свидетельствуют о взаимозависимости процессов термической денатурации археллинов FlaB1 и FlaB2, что указывает на тесное взаимодействие этих субъединиц в надмолекулярной структуре. Таким образом, функциональные археллы *Hrr. lacusprofundi* могут быть построены из единственного археллина FlaB2 или FlaB1 и двухкомпонентный состав не нужен для спирализации филаментов. Присутствие двух различных субъединиц отвечает за дополнительную стабилизацию структуры архелл и их адаптацию к более широкому диапазону внешних условий. Сравнительный геномный анализ археллинов показывает, что описанная комбинация из двух сильно отличающихся археллинов, характерная для рода *Halorubrum*, встречается и у организмов других родов галоархей.

Ранее было показано, что дополнительные археллины могут участвовать в формировании второстепенных компонентов нити (крюк) или выступать в качестве экопаралогов. В данной работе мы впервые показали, что множественные археллины также могут быть важны для повышения стабильности филамента. Кроме того, мы приводим доказательства того, что обмен археллинами между различными видами галоархей может приводить к формированию функциональных архелл и способствовать эволюционной приспособляемости разных видов.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 19-04-00613 А).



'SULFURIMONAS CRATERIS' SP. NOV. НОВЫЙ ВИД ХЕМОЛИТОТРОФНЫХ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫХ СЕРООКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ ИЗ ГРЯЗЕВОГО ВУЛКАНА ТАМАНИ

Ратникова Н.М., Слободкин А.И., Меркель А.Ю., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкина Г.Б.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва,
inmi@inmi.host.ru, info@fbras.ru

Грязевые вулканы представляют собой геологические образования, где под воздействием высокого пластового давления на поверхность Земли извергаются грязевые массы и газы. Они создают экологические ниши для развития различных групп микроорганизмов. Целью данного исследования был поиск новых автотрофных прокариот из грязевого вулкана Таманского полуострова.

В работе были использованы методы выделения и культивирования анаэробных микроорганизмов. Нуклеотидная последовательность генома была получена методом высокопроизводительного секвенирования на платформе *Illumina* MiSeq.

В результате был выделен и описан новый мезофильный факультативно анаэробный штамм SN118T, являющийся представителем рода *Sulfurimonas*. Все известные виды данного рода распространены в морских и подземных местообитаниях. Новый изолят получен из наземного грязевого вулкана Кучугур, расположенного на полуострове Тамань (Краснодарский край, РФ). Штамм растет хемолитоавтотрофно, используя элементную серу или тиосульфат в качестве донора электронов, нитрат, нитрит или кислород в качестве акцептора электронов и $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ – как источник углерода.

Клетки нового изолята представляют собой прямые или изогнутые палочки диаметром 0.3 мкм и длиной 0.7-1.5 мкм, подвижные за счет полярного жгутика. Клеточная стенка Грамотрицательного типа.

Штамм SN118T растет в диапазоне температур 5 – 40°C, с оптимумом при 30°C, при диапазоне pH 5.5 – 9.5 с оптимумом 8.0, в присутствии 1% NaCl. На основе сравнения генов 16S рРНК было выявлено, что новый штамм наиболее близок к виду *Sulfurimonas denitrificans* (сходство 96.74%). Сходство генов 16S рРНК с другими видами рода *Sulfurimonas* варьирует от 93.95% до 95.84%.

Размер генома штамма SN118 составляет 2,209,279 пар оснований. Содержание ГЦ пар в геномной ДНК - 38.8%. Анализ генома выявил, что для фиксации углерода бактерия может использовать восстановительный цикл трикарбоновых кислот, а окисление соединений серы происходит по Sox пути. Также ДНК содержит все гены, необходимые для полного восстановления нитрата до молекулярного азота. За счет генов цитохром с оксидаз типа *cbb3* клетки способны использовать кислород в качестве конечного акцептора электронов.

На основании полученных данных был предложен новый вид рода *Sulfurimonas* - '*Sulfurimonas crateris*'.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант №17-74-30025).



ДЕЙСТВИЕ ФУНГИЦИДОВ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГРИБА *PYRICULARIA ORYZAE*

Реутова И.О., Смирнов В.Ф., Смирнова О.Н., Аникина Н.А.

Нижегородский государственный университет им Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород,
biodeg@mail.ru

В настоящее время наиболее эффективным методом защиты риса от пирикулярриоза в мировой практике считается использование химических средств защиты - фунгицидов. На сегодня в России и за рубежом для борьбы с пирикулярриозом используются зарубежные дорогостоящие препараты, действующие только на споры грибов.

Целью данной работы является поиск новых биоцидных препаратов, подавляющих не только споры, но и вегетативный мицелий *P. oryzae*. В экспериментах использовали гербарный штамм *P. oryzae*, выделенный с листьев риса, представленный НИИ риса г. Краснодар.

В качестве биоцидов использовались следующие химические соединения: *Bioban DB-20*; *Bioban 536*; *Bioneutral A 17*; *Bioneutral PL 10*; Биор-1 (ПГМГ); *Mergal 530*; *Polypase EC 18*; *Nuosept BIC*; *Nuosept BM 11* в концентрациях (0,01 – 0,25%). Установлено, что биоциды *Bioban DB-20* и *Bioneutral A 17* способны подавлять споровые формы гриба *P. oryzae*. Минимальные ингибирующие концентрации для этих веществ составляли 0,1 и 0,025%, соответственно. Данные препараты в этих концентрациях также подавляли рост вегетативного мицелия гриба на 40-50%, о чем свидетельствовало снижение прироста их биомассы при культивировании на жидкой питательной среде.

Известно, что *P. oryzae* обладает высокоактивной антиоксидантной системой. У данного гриба отмечается высокая активность супероксиддисмутазы и каталазы, а также значительное количество их изоформ. Кроме этого у *P. oryzae* обнаруживается и высокая пероксидазная активность. Всё это позволяет данному микроорганизму оставаться устойчивым к экстремальным воздействиям различных факторов, в том числе к действию биоцидных препаратов.

Нами исследовалось действие ряда биоцидов *Bioban DB-20* и *Bioneutral A 17* на активность каталазы и пероксидазы гриба *P. oryzae*.

Было установлено, что фунгицид *Bioneutral A 17* подавляет активность каталазы, не оказывая ингибирующего эффекта на пероксидазную активность. Напротив, фунгицид *Bioban DB-20* подавляет активность пероксидазы, не оказывая ингибирующего эффекта на каталазную активность.

Таким образом, все вышеизложенное позволяет рекомендовать препараты *Bioneutral A 17* и *Bioban DB-20* в качестве средств защиты от пирикулярриоза риса.

РАЗРАБОТКА ПРОИЗВОДНОГО ПИРИДОКСИНА И ТЕРБИНАФИНА ДЛЯ ТЕРАПИИ ПОЛИМИКРОБНЫХ БИОПЛЕНОК *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *CANDIDA ALBICANS*

Сабирова А.Э., Каюмов А.Р., Лисовская С.А., Павельев Р.С., Гарипов М.Р.,
Штырлин Н.В., Штырлин Ю.Г.

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Научно-образовательный центр
фармацевтики, Казань, Alinka.zam@mail.ru

Многие патогенные микроорганизмы формируют биопленки – сообщества клеток погруженных в сложный органический матрикс. В клинической практике они встречаются на поверхности имплантатов, слизистых, ран. Бактерии в составе биопленки устойчивы к биоцидам, антибиотикам и иммунной системе человека, что приводит к хроническим реинфекциям и воспалительным послеоперационным осложнениям. Особенную опасность представляют смешанные биопленки, состоящие из бактерий и грибов *Candida*. Поэтому поиск новых антибактериаль-



ных соединений, эффективных против патогенов в составе биопленки, является актуальной задачей. Синтезированная в НОЦ Фармацевтики КФУ четвертичная аммонийная соль на основе пиридоксина и тербинафина (KFU-127) продемонстрировала высокую антимикробную и антимикотическую активность. Целью работы было охарактеризовать спектр и молекулярный механизм действия соединения KFU-127.

Антимикробную и антимикотическую активность KFU-127 оценивали методами микроразведений и подсчета КОЕ. Генотоксичность оценивали в SOS-хромотесте и тесте Эймса, цитотоксичность – в МТТ тесте. Для выявления мишеней использованы методы флуоресцентной спектроскопии, 2D-электрофореза, масс-спектрометрии.

Антимикробная и антимикотическая активность KFU-127 были сопоставимы или даже выше чем у контрольных противогрибковых (тербинафин, флуконазол) и антимикробных препаратов (мирамистин, бензалконий хлорид). При этом KFU-127 убивало клетки в составе биопленки в концентрациях в 2-4 раза ниже, чем у препаратов сравнения, а также было способно к эрадикации смешанной биопленки *S. aureus*-*C. albicans*. Несмотря на принадлежность KFU-127 к четвертичным аммонийным солям, соединение слабо влияло на целостность мембраны бактерий. Анализ протеома клеток, выращенных в присутствии сублетальных концентраций KFU-127, позволил установить, что одними из молекулярных мишеней вещества являются пиридоксаль-зависимые ферменты. Ни для грибковых, ни для бактериальных патогенов не наблюдалось развития стабильной резистентности к KFU-127; не выявлена мутагенность в тесте Эймса, а цитотоксичность сравнима с мирамистином и бензалкония хлоридом.

Таким образом, KFU-127 представляет собой новый перспективный антимикробный препарат широкого спектра действия для терапии полимикробных биопленок *S. aureus* и *C. albicans*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-33-20051

КЛИНИКО-МИКОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ НОВЫМ ПРОТИВОГРИБКОВЫМ ПРЕПАРАТОМ «РОЗЕОФУНГИН-АС» КОЖНЫХ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Саданов А.К.¹, Балгимбаева А.С.¹, Треножникова Л.П.¹, Березин В.Э.¹, Турлыбаева З.Ж.¹,
Кулмагамбетов И.Р.¹, Итемирова А.О.², Абилкасимова Г.Е.²

¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», Алматы, Казахстан, ,
105, imv_rk@list.ru

²Областной кожно-венерологический диспансер МЗ РК, г.Алматы

Введение. В настоящее время на долю микозов приходится от 37 до 42% заболеваний кожи. Грибковые инфекции высоко контагиозны и плохо поддаются лечению, что объясняется недостаточной эффективностью существующих препаратов и быстрой изменчивостью грибов, приводящей к появлению устойчивых форм.

Цель работы. Изучение эффективности нового противогрибкового медицинского средства «Розеофунгин-АС» в отношении возбудителей кожных грибковых инфекций.

Материалы и методы. Исследование проводили на популяции пациентов обоего пола в возрасте от 18 до 75 лет с диагнозом: микоз кожи с поражением или без поражения придатков кожи. Лечение проводили исследуемым препаратом «Розеофунгин-АС, мазь 2%» и референтным препаратом «Клотримазол, крем 1%» 2 раза в день в течение 28 дней. Препараты наносили на поверхность кожи тонким слоем, создавая равномерную пленку толщиной до 0,5 мм. Исследование проводилось в условиях дневного стационара и амбулаторно на клинических базах Республиканского государственного предприятия «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова».

Результаты и обсуждение. К концу терапии в обеих группах зарегистрирована высокая микологическая эффективность, однако, положительная динамика показателей была более выражена в группе пациентов, получавших лечение испытуемым препаратом. В исследовании (3 фаза



клинических исследований) препарат «Розеофунгин-АС» проявил терапевтическую эффективность при лечении грибковых инфекций, вызванных возбудителями трихофитии (*Trichophyton rubrum*, *T. violaceum*, *T. tonsurans*), микроспории (*Microsporum canis*, *M. gypseum*), кандидоза (*Candida albicans*, *Candida spp.*), а также в отношении плесневых грибов (*Penicillium glaucum*). Санация микологического процесса была достигнута в 99,1% случаев при терапии испытуемым препаратом и 97,7% - контрольным. В исследовании не были зафиксированы аллергические реакции и непереносимость исследуемого препарата. Препарат «Розеофунгин-АС», мазь 2% для наружного применения является эффективным антимикотическим средством, клинико-микологическая эффективность которого в терапии микозов кожи составляет 99,1%.

Выводы. Препарат «Розеофунгин-АС», мазь 2% для наружного применения может быть рекомендован как высокоэффективный и безопасный метод терапии микозов кожи.

ИЗМЕНЕНИЕ КАТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОФЛОРЫ АНОДНОЙ ЗОНЫ МИКРОБНОГО ТОПЛИВНОГО ЭЛЕМЕНТА

Самков А.А., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Лазукин А.А., Круглова М.Н., Зеленская А.А.
andreysamkov@mail.ru

Биоэлектрохимические системы, прежде всего, микробные топливные элементы (МТЭ), вызывают интерес не только как отдельный тип альтернативных источников электрической энергии, но и как инструмент модификации анаэробной микробной трофической цепи.

С помощью мультисубстратного тестирования EcoPlate (Biolog) исследовали различия в спектре субстратов, потребляемых анодным микробиоценозом МТЭ. Сравнивали скорости микробного анаэробного разложения ксенобиотиков (пестицид и углеводороды), в зависимости от протекания тока во внешней цепи. В качестве биологического агента использовали смешанную культуру донных отложений пресного водоема, электрогенез которой был выше, чем чистой культуры *Shewanella oneidensis* MR-1.

Обнаружены изменения кatabолической активности такого микробиома анодной камеры МТЭ мембранного типа, а также анодной зоны безмембранного МТЭ илового (бентосного) типа, по сравнению с активностью исходных микробиомов.

Динамика разложения внесенного в инокулированную донными отложениями водоема анодную камеру МТЭ пестицида имидаклоприда зависела от наличия внешней цепи: при замыкании анода и катода напрямую, либо через резистор, наблюдалось значительное ускорение биodeградации ксенобиотика по сравнению с контролем, где цепь была разомкнута. Оценка метаболических фингерпринтов показала увеличение индекса биоразнообразия Шеннона микрoфлоры анодной камеры МТЭ мембранного типа по сравнению с исходным микробиоценозом донных отложений. При размещении анода безмембранных МТЭ илового (бентосного) типа в донных отложениях, искусственно загрязнённых углеводородами, после долговременной инкубации в режиме замыкания внешней цепи через резистор, наблюдалось ускорение снижения концентрации углеводородов вблизи поверхности анода, а также изменения фракционного состава углеводородов по сравнению с контролем.

Микробный топливный элемент, биокатализ, биоэлектрохимические системы, пестициды, нефть.



ЭФФЕКТЫ ЭКСТРАКТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ НА БИОПЛЕНКИ *ESCHERICHIA COLI* В ПРИСУТСТВИИ АНТИБИОТИКА ЦЕФОТАКСИМА

Самойлова З.Ю., Смирнова Г.В., Октябрьский О.Н.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», филиал ПФИЦ, Пермь,
samoilova@iegm.ru

Введение и актуальность: экстракты лекарственных растений, широко применяемые при лечении инфекций мочеполовой системы, могут оказывать значительное влияние на чувствительность бактериальных биопленок к цефотаксиму.

Цель: изучить модулирующие эффекты водных экстрактов лекарственных растений на скорость бактерицидного эффекта цефотаксима (ЦФ) при действии на зрелые биопленки *Escherichia coli*.

Материалы и методы: биопленки *E. coli* BW25113 (wt) выращивали на 96-луночных полистироловых планшетах при 37°C на минимальной среде М9 с добавлением глюкозы, казеиновых кислот и тиамина в течение 22 ч. Зрелые биопленки дважды отмывали физиологическим раствором и инкубировали 1 ч в свежей питательной среде с добавлением экстрактов растений. Затем добавляли ЦФ (1 и 10 мкг/мл, что соответствовало 10 и 100 МИК) и через 2 ч стандартными бактериологическими методами оценивали выживаемость культур в биопленках и рассчитывали значения скорости бактерицидного эффекта. Экстракты растений готовили из отечественных препаратов ОАО «Красногорсклессредства» и ЗАО «Иван-Чай».

Результаты: Экстракты *Arctostaphylos uva-ursi*, *Vitis vitis-idaea* и *Betula pendula* оказывали модулирующее влияние на скорость бактерицидного эффекта ЦФ. При этом, в большинстве изученных ситуаций обработка экстрактом *A. uva-ursi* повышала скорость бактерицидного эффекта ЦФ до 5 раз по сравнению с культурами, обработанными только антибиотиком, а экстракты *V. vitis-idaea* и *B. pendula* снижали скорость бактерицидного эффекта до 13 раз.

Выводы: В наших условиях подтверждаются данные о перспективности экстракта *A. uva-ursi* как противомикробного средства. Однако выявленные ситуации подавления скорости бактерицидного эффекта в присутствии других экстрактов указывают на необходимость корректировки схем лечения, включающих совместный прием антибиотиков и фитопрепаратов. Полученные данные представляют практический интерес и нуждаются в дальнейшем изучении.

Исследование выполнено в рамках государственного задания № госрегистрации темы 01201353246, а также при поддержке грантами Президента МК-3376.2018.4, РФФИ-19-0400888 и Программы УрО РАН АААА-А18-118041890005-1.

ВЛИЯНИЕ СТРУКТУРНО РАЗЛИЧНЫХ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОВ БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM* НА АКТИВНОСТЬ ПЕРОКСИДАЗЫ В РАСТЕНИЯХ

Самсонова Е.А.¹, Сигида Е.Н.², Коннова С.А.¹, Федоненко Ю.П.^{1,2}

¹ Саратовский Национальный Исследовательский Государственный Университет
им. Н.Г. Чернышевского

² Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук

Бактерии рода *Azospirillum* являются типичными представителями ризосферы диких и культивируемых злаков. На сегодняшний день род *Azospirillum* включает около 20 видов, большинство из которых увеличивают урожайность растений. Рост-стимулирующий потенциал азоспирилл реализуется посредством продукции фитогормонов, улучшения минерального питания, фиксации атмосферного азота и снижения биотических и абиотических стрессов и других механизмов. В начальные этапы формирования растительно-микробных ассоциаций с участием



азоспирилл вовлечены гликополимеры бактериальной поверхности – капсульные полисахариды и липополисахариды (ЛПС). Целью работы было исследование активности пероксидазы в проростках пшеницы и кукурузы, индуцированной ЛПС ризосферного штамма *A. brasilense Sp7* и штамма *A. thiophilum BV-S*, изолированного из сульфидного источника.

Культивирование бактерий проводили в жидкой малатно-солевой среде с витаминами до окончания экспоненциальной фазы роста. ЛПС выделяли из высушенных освобожденных от капсулы клеток горячим водно-фенольным раствором по методу Вестфалля, примесей белков и нуклеиновых кислот обработкой ТХУ и лиофилизировали. Пшеницу и кукурузу выращивали в стерильных условиях в присутствии ЛПС (10-250 мкг/мл) в течение 5 суток. Пероксидазную активность, содержание перекиси водорода и общее содержание белка в корнях и стеблях проростков определяли колориметрическими методами.

В результате проведенных исследований было выявлено изменение активности пероксидазы в корнях и стеблях 5-суточных проростков пшеницы и кукурузы, выращенных в присутствии ЛПС *A. thiophilum BV-S* и *A. brasilense Sp7*, отличающихся по структуре О-специфического полисахарида и липида А, по сравнению с контролем.

Таким образом, на примере исследования активности пероксидазы в растениях показано, что ЛПС азоспирилл участвуют в активации неспецифических реакций, связанных с развитием индуцируемой системной устойчивости.

Работа поддержана грантом РФ (проект № 18-74-00060)

ПЕРСПЕКТИВА БИОРЕМЕДИАЦИИ ПЛАСТОВЫХ ВОД С УРАНОВЫМ ЗАГРЯЗНЕНИЕМ В ПРИСУТВИИ ВЫСОКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ НИТРАТ-ИОНОВ ВБЛИЗИ ШЛАМОХРАНИЛИЩА АО «ЭХЗ»

Сафонов А.В.¹, Попова Н.М.¹, Лобанова А.А.¹, Селедчик П.А.¹, Ершов Н.А.¹, Богуславский А.Е.²

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Институт геологии и минералогии им. В.С. Соболева Сибирского отделения РАН,
Новосибирск

Шламохранилища предприятий горно-добывающей и рудоперерабатывающей промышленности создают серьезные риски загрязнения окружающей среды соединениями тяжелых металлов, радионуклидов и ионами минеральных солей. Шламохранилища сублиматных заводов, к которым относится АО «ЭХЗ» содержат природный уран, и ряд других высокотоксичных металлов. Тело шламохранилища, представлено отложениями карбонатов и сульфатов кальция железа, бария и других элементов. При контакте этих отложений с метеорными и подземными водами в часть соединений переходит в раствор. Переменновалентные актиниды находятся в высших степенях окисления, которые зачастую являются наиболее подвижными.

В данной работе отобраны пробы из наблюдательных скважин верхнего водоносного горизонта (10-15 м), содержание нитрат-ионов варьировалось от нескольких миллиграмм до 16 г/л, содержание сульфатов до 500 мг/л. В пробах из всех скважин обнаружены денитрифицирующие бактерии, их численность была максимальна в пробе из незагрязненной скважины (106 кл/мл), при максимальном нитратном загрязнении не превышала 1000 кл/мл, численность сульфатвосстанавливающих бактерий в чистой скважине была 103 кл/мл, с максимальным нитратным загрязнением 102 кл/мл. На основании анализа генов 16S рПНК, определено, что в сильнозагрязненной пробе до 45% представителей сообщества относились к семейству *Desulfovibrionaceae*, остальные равномерно распределены между представителями *Rhizobiales*, *Nocardiaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Burkholderiaceae*, *Rhodocyclaceae*, *Pseudomonadaceae*.

В серии лабораторных экспериментов были подобраны добавки – доноры электронов. Максимальная скорость потребления нитрата наблюдалась при использовании молочной сыворотки и сахарозы. Добавление сахарозы приводило к доминированию представителей семейств



Paenibacillaceae, *Rhizobiaceae*, *Pseudomonadaceae*, при использовании стерильной молочной сыворотки в пробах доминировали *Pseudomonadaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Burkholderiaceae*.

На территории АО «ЭХЗ» был проведен тестовый полевой эксперимент по закачке субстратов в пластовую воду. После нагнетания 200 литров раствора, содержащего 2 г/л сахара, в участке пласта с загрязнением нитрат-ионами на уровне 5000 мг/л установлено снижение концентрации нитрата в пределах 30%. При этом, увеличился вклад представителей *Pseudomonadaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Betaprotobacteriales*, *Burkholderiaceae* которые известны способностью к денитрификации. Таким образом, показана возможность биоремедиации подземных вод с высоким нитратным загрязнением, что будет способствовать уменьшению миграции урана.

Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ, грант № 17-05-00707.

ОПЫТ *IN SITU* БИОРЕМЕДИАЦИИ ПОДЗЕМНЫХ ВОД С РАДИОНУКЛИДНЫМ ЗАГРЯЗНЕНИЕМ

Сафонов А.В.¹, Бабич Т.Л.¹, Болдырев К.В.³, Соколова Д.Ш.¹, Захарова Е.В.², Назина Т.Н.¹

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, Москва

²Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

³ Институт проблем безопасного развития атомной энергетики РАН, Москва

Попадание нитрат-ионов в водоносные горизонты, загрязненные радионуклидами с переменной степенью окисления является важным фактором их высокой миграционной активности в окисленной форме. В восстановительных условиях многие актиниды (уран, плутоний, нептуний) и технеций, как правило менее мобильны в низших степенях окисления. Комплексным решением проблемы может быть использование метода *in situ* биоремедиации путем нагнетания органических субстратов через инъекционные скважины.

В данной работе проведены лабораторные и полевые испытания удаления нитрат-ионов из подземных вод верхнего водоносного горизонта вблизи хранилища жидких радиоактивных отходов сибирского химического комбината. Содержание нитрат-ионов в некоторых участках пласта достигало 2000-3000 мг/л, в водах присутствовали технеций, плутоний, уран, цезий и стронций.

Микробиологический анализ отобранных проб показал высокую численность денитрифицирующих бактерий, что создало предпосылки для начала лабораторных экспериментов для подбора условий стимулирования нитратредукции. Оптимальной органической добавкой для удаления нитрата служили сложные субстраты (молочная сыворотка, пивная дробина), при использовании которых удалось достичь скоростей 362,1 и 285,2 мгN/л/сутки соответственно.

Проведен расчет поведения радионуклидов в процессе стимулирования микробного сообщества подземных вод. Установлено, что образование биопленок на поверхности песчано-суглинистых пород водоносного горизонта увеличивает их сорбционную емкость для урана, при этом сорбция стронция и цезия и плутония уменьшается по причине биогенного изменения глинистой фракции и перекрывания более эффективных сорбционных центров на ней. При этом будет происходить значительное уменьшение растворимости редокс-активных металлов, за счет удаления окислителей и снижения окислительно-восстановительного потенциала среды. С использованием программного пакета PREEQC были рассчитаны основные малорастворимые минеральные фазы для технеция и урана и нептуния и проведено моделирование поведения серы и железа. В следствии микробной активации можно ожидать появление пиритов и пирроитов, стабилизирующих низкие показатели ОВП.

Закачка растворов молочной сыворотки и сахарозы в подземный горизонт (*single-well push-pull test*) привела к интенсивному удалению нитрат-ионов в течении нескольких месяцев и снижению редокс-потенциала среды до -120 mV, что, согласно лабораторным расчётам должно привести к локальной иммобилизации радионуклидов.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект №17-17-01212.



РАЗНООБРАЗИЕ ПРОКАРИОТ В ПЛАНКТОННЫХ СООБЩЕСТВАХ СОЛЬ-ИЛЕЦКИХ ОЗЕР

Селиванова Е.А., Хлопко Ю.А., Плотников А.О.

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения
Российской академии наук, Оренбург, ofrc@list.ru

Соль-Илецкие озера – это группа из шести озер карстово-антропогенного происхождения с соленостью от 10 до 350 г/л, сформировавшихся на поверхности Илецкого соляного купола (Оренбургская область). Целью работы стало изучение разнообразия прокариот в озерах методом высокопроизводительного секвенирования фрагментов гена 16S рРНК, выявление сходства и различий с подобными водоемами другой географической локализации и оценка влияния автотрофных и гетеротрофных протистов на состав прокариот в галофильных микробных сообществах.

Материалом были пробы воды, отобранные в 2015 г., а также клональные культуры протистов, выделенные из планктона озера с соленостью 300 г/л. Тотальную ДНК выделяли методом механической гомогенизации в сочетании с ферментативным лизисом. ДНК-библиотеки были созданы по протоколу *Illumina* с праймерами к варибельному участку V3–V4 гена 16S рРНК. Секвенирование проводили на секвенаторе MiSeq (*Illumina*, США) с использованием набора реактивов MiSeq Reagent Kit V3. Биоинформатическую обработку данных проводили с использованием USEARCH v8.0.1623_win32.

В сообществах озер с уровнем минерализации 285–300 доминировали экстремально галофильные археи филумов *Euryarchaeota* и *Nanohaloarchaeota*, бактерии филума *Bacteroidetes*; с минерализацией 110–180 – филумов *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и класса *Gammaproteobacteria*. В озере с минерализацией 10 наблюдалось массовое развитие представителей филума *Cyanobacteria*. Для каждого из озер определены комплексы доминирующих фило типов и проведено сравнение с данными по другим талассо- и аталассогаалинным водоемам. При оценке влияния протистов показано, что таксономическое разнообразие прокариот выше в ассоциациях с гетеротрофами (*Pleurostomum salinum*, *Heterolobosea* sp.), чем в ассоциациях с автотрофами (*Dunaliella parva*, *Asteromonas gracilis*). *Euryarchaeota* и *Gammaproteobacteria* представлены в массе как во всех культурах протистов, тогда как *Bacteroidetes* и *Deltaproteobacteria* – только в культурах гетеротрофных протистов.

С помощью высокопроизводительного секвенирования исследовано разнообразие прокариот в планктонных сообществах Соль-Илецких озер. Продемонстрировано влияние солености на таксономическое богатство, состав и разнообразие прокариот в исследуемых озерах. Показано, что наряду с действием солености протисты значительно изменяют состав и соотношение прокариот в галофильных микробных сообществах.

ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ГАЛОТОЛЕРАНТНЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ АРИДНЫХ ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВ

Селицкая О.В*, Бегматов Ш.А.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва,
selitskayaolga@gmail.com

Введение. В экосистемах с экстремальными условиями обитания, в том числе в сильнозасоленных, биологическая фиксация азота играет ключевую роль в круговороте азота и обеспечении представителей местной флоры доступной формой азота. Выделение и исследование свободноживущих и ассоциативных азотфиксирующих бактерий из засоленных почв представляет несомненный интерес с точки зрения разработки практических решений для улучшения роста и развития растений и повышения биологической активности засоленных почв.



Материалы и методы. Получение накопительных, выделение чистых культур и культивирование проводили на модифицированной среде Эшби следующего состава (г/л): сахара – 20,0; K_2HPO_4 – 0,2; $MgSO_4$ – 0,2; NaCl – 50; K_2SO_4 – 0,1; $CaCO_3$ – 5,0. Идентификация отобранных штаммов была проведена путем секвенированием гена 16S рРНК. Использовали универсальные праймеры 27F/1492R (Lane D.J., 1991) Азотфиксирующую активность чистых культур определяли на модифицированной среде Эшби, содержащей 50 г/л NaCl, методом газовой хроматографии путем анализа активности восстановления ацетилена до этилена (Харди и др., 1968).

Результаты и обсуждение. Полученные результаты показывают, что после обогащения в модифицированной среде без азота, содержащей 50 г/л NaCl, из солончаковой почвы, были выделены два изолята, которые восстанавливают ацетилен до этилена и могут культивироваться на среде без азота. Секвенирование гена 16S рРНК показало, что штаммы относятся к родам *Halomonas* (*Proteobacteria*) и *Gracilibacillus* (*Firmicutes*). Результаты измерения нитрогеназной активности показали, что выделенные нами штаммы *Halomonas* (*Proteobacteria*) и *Gracilibacillus* (*Firmicutes*) обладают способностью восстанавливать ацетилен до этилена. Нитрогеназная активность штаммов составила $1,12 \pm 0,174$ наномоль/час для *Gracilibacillus* sp. и $0,51 \pm 0,01$ наномоль/час для *Halomonas* sp. соответственно.

Заключение. Исследования ассоциативных азотфиксирующих бактерий, особенно галофильных азотфиксирующих бактерий засушливых почв, расширяют наши представления в области микробной экологии и физиологии, а также имеют практическое значение в плане разработки биопрепаратов для стимулирования роста сельскохозяйственных культур и улучшения биологической активности деградированных сельскохозяйственных земель.

АГРОГЕННАЯ ЭВТРОФИКАЦИЯ ПОЧВЫ КАК ПРИЧИНА ПЕРЕСТРОЙКИ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА РИЗОСФЕРЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР

Семенов М.В., Никитин Д.А.

Почвенный институт им. В.В.Докучаева, Москва, semenov_mv@esoil.ru

Введение. Ризосфера является «горячей точкой» микробной активности в почве и считается одним из сложнейших локусов с точки зрения разнообразия и межвидовых связей. Таксономическое и функциональное разнообразие микробных сообществ ризосферы определяется множеством биотических и абиотических факторов. Хотя ключевая роль экссудатов растений в формировании структуры ризосферных микробных сообществ хорошо известна для естественных экосистем, в агроценозах эвтрофикация почвы при внесении удобрений также становится значимым фактором, определяющим микробиом как внекорневой почвы, так и ризосферы растений. По-прежнему остается не ясным, насколько сильно влияет каждый из этих двух факторов, если сравнивать их совместное воздействие на микробные сообщества ризосферы.

Цели и методы исследования. В данном исследовании мы оценивали влияние факторов, связанных с растениями (тип и стадия развития) и удобрениями (минеральные или органические), на численность, биомассу и таксономическую структуру микробных сообществ ризосферы и внекорневой почвы. Отбирали образцы внекорневой почвы и ризосферы кукурузы, картофеля и горчицы белой под двумя типами удобрительных систем (минеральная – N180P150K150; органическая – 50 т/га навоза крупного рогатого скота) в рамках длительного микрополевого эксперимента. Численность копий генов и транскриптов архей, бактерий и грибов оценивалась методом RT-PCR. Структура тотальных (ДНК) и активных (РНК) сообществ прокариот и грибов определялась с помощью высокопроизводительного секвенирования ампликонов 16S рРНК и ITS2 на платформе *Illumina MiSeq*.

Результаты исследования. Длительное применение органических удобрений приводило к значительному повышению биомассы, численности и активности микроорганизмов, а также росту разнообразия и общего количества таксонов вследствие активирования минорных групп



в составе сообщества и привнесения дополнительных видов микроорганизмов. Минеральные удобрения резко сокращали микробное разнообразие и количество таксонов в ризосфере и внекорневой почве. В целом, агрогенная эвтрофикация в виде длительного внесения удобрений полностью перекрывала влияние растений на ризосферный микробиом, что приводило к сближению микробных сообществ ризосферы и внекорневой почвы.

Заключение. Полученные результаты показывают, что система удобрения является наиболее значимым фактором, определяющим численность и структуру тотальных и активных сообществ прокариот и грибов как во внекорневой почве, так и в ризосфере растений. Таким образом, традиционная концепция о доминирующей роли растений в формировании микробного сообщества ризосферы, доказанной для естественных экосистем, не подтвердилась для агроценозов и должна быть пересмотрена.

Благодарность. Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 19-04-00315.

НОВЫЕ ТЕРМОФИЛЬНЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ КЛАССА *CLOSTRIDIA* ИЗ НАЗЕМНЫХ ГИДРОТЕРМ КАМЧАТКИ И КУНАШИРА

Слободкина Г.Б., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И.

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Москва, inmi@inmi.host.ru, info@fbras.ru

Наземные гидротермы Дальнего Востока России служат одними из наиболее значимых природных объектов для изучения биоразнообразия термофильных микроорганизмов. Чрезвычайное многообразие физиологических и метаболических свойств термофилов делает их привлекательными объектами, как для фундаментальных, так и для прикладных исследований. Целью данной работы был поиск новых термофильных анаэробных прокариот.

Были использованы методы выделения и культивирования анаэробных микроорганизмов, а также методы фенотипической и генотипической диагностики, соответствующие требованиям для описания новых таксонов.

Мы выделили, охарактеризовали и валидно опубликовали имена двух термофильных анаэробных бактерий, являющихся представителями новых родов класса *Clostridia* в филуме *Firmicutes*.

Tepidibaculum saccharolyticum gen. nov., sp. nov. STR9T выделен из горячего источника кальдеры Узон, Камчатка. Клетки спорообразующие, подвижные, прямые или слегка изогнутые палочки. Растет при температуре 30–58°C (оптимум 50°C) и pH 5,0–10,5 (оптимум 8,0–9,0). Обладает бродильным типом метаболизма - использует моно-, ди- и полисахариды и сложные белковые соединения. Продукты брожения глюкозы - этанол, ацетат, водород и CO₂. Филогенетический анализ показал, что штамм принадлежит к семейству *Ruminococcaceae*.

Thermodesulfitimonas autotrophica gen. nov., sp. nov. SF97T выделен из наземной гидротермы острова Кунашир. Клетки палочковидные, подвижные с Грамположительным типом клеточной стенки. Рост наблюдается при температуре 45–72°C (оптимум 65°C) и pH 5,5–8,5 (оптимум 6,0–6,5). Изолят растет хемолитоавтотрофно с молекулярным водородом в качестве донора электронов, сульфитом или газообразным SO₂ в качестве акцептора электронов и CO₂/HCO₃⁻ в качестве источника углерода. Филогенетический анализ показал, что штамм принадлежит к семейству *Thermoanaerobacteraceae*. Уникальными метаболическими характеристиками данного микроор-



ганизма являются облигатная зависимость от восстановления сульфита для роста и неспособность использовать другие акцепторы электронов, в том числе сульфат. Также необычным является наличие генов, необходимых для функционирования сразу двух путей фиксации CO₂.

Полученные результаты расширяют знания о филогении и функциональных возможностях прокариот в наземных термальных экосистемах.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант 17-74-30025).

ГОМЕОСТАЗ ЦИСТЕИНА ПРИ ИНГИБИРОВАНИИ СИНТЕЗА БЕЛКА В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

Смирнова Г.В., Тюленев А.В., Безматерных К.В., Музыка Н.Г., Ушаков В.Ю., Октябрьский О.Н.

«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН», Пермский федеральный исследовательский центр, Пермь, smirnova@iegm.ru

В живых клетках L-цистеин используется для синтеза белка и глутатиона и служит первичным источником восстановленной серы для многих органических молекул. Редокс-активность сульфгидрильных групп цистеина играет важную роль в изменениях конформации белков, ферментативной активности, клеточной сигнализации и других процессах. Однако из-за высокой способности к восстановлению внутриклеточного железа свободный цистеин может участвовать в генерации токсичных гидроксильных радикалов в ходе реакции Фентона, что создает опасность окислительного повреждения ДНК и других клеточных структур. Для предотвращения этих негативных явлений бактериальные клетки должны осуществлять строгий регуляторный контроль и поддерживать низкий уровень внутриклеточного цистеина. Уровень цистеина у *E. coli* контролируется путем регуляции его синтеза, деградации и транспорта. Целью настоящей работы было выявление вклада этих путей в поддержание гомеостаза цистеина при ингибировании синтеза белка, вызванного аминокислотным голоданием или добавлением хлорамфеникола. Родительский штамм *E. coli* BW25113 и мутанты из коллекции Keio выращивали на минимальной среде M9 с глюкозой при непрерывном «real-time» мониторинге уровня растворенного кислорода, редокс-потенциала (Eh) и концентрации ионов S²⁻ в среде с использованием селективных электродов. H₂S в газовой фазе выявляли с помощью бумажных полосок, пропитанных ацетатом свинца. Цистеин определяли методом Гайтонде, глутатион – методом Титца.

Мы показали, что ингибирование синтеза белка при обработке клеток валином, вызывающим голодание по изолейцину, или антибиотиком хлорамфениколом сопровождалось хорошо скоординированными изменениями в путях метаболизма цистеина (синтез, деградация, экспорт и включение в состав глутатиона). Избыток цистеина, возникающий при ингибировании синтеза белка, в основном включался в глутатион (до 90%), который можно рассматривать как буфер цистеина. Доля H₂S, который являлся продуктом деградации цистеина с участием фермента O-ацетилсеринлиазы B (CysM), не превышала 1-3%, остальное приходилось на цистеин, экспортируемый из клеток в среду. В результате внутриклеточный цистеин в штамме дикого типа поддерживался на низком уровне (около 0.1 мМ). Отсутствие глутатиона в gshA мутанте усиливало продукцию H₂S и экспорт цистеина и приводило к 3-кратному повышению уровня внутриклеточного цистеина в ответ на добавление валина или хлорамфеникола. Мутанты *relA*, лишённые синтетазы гуанозинтетрафосфата *RelA*, при обработке валином продуцировали больше H₂S, демонстрировали повышенный экспорт глутатиона и накапливали больше цистеина в цитоплазме, чем родитель, что может свидетельствовать об участии регуляторного нуклеотида (p)ppGpp в поддержании гомеостаза цистеина. Нарушение гомеостаза цистеина у мутантов gshA и relA усиливало их чувствительность к пероксидному стрессу при добавлении



H₂O₂. Наша работа впервые представляет комплексный анализ путей поддержания гомеостаза цистеина при ингибировании синтеза белка, то есть в ситуации, которая является универсальной частью ответа клеток на многие стрессовые воздействия.

Работа выполнена в соответствии с государственным заданием № 01201353249 и поддержана грантами Программы УрО № АААА-А18-118041890005-1 и РФФИ № 19-04-00888.

ВЫДЕЛЕНИЕ ТЕРМОФИЛЬНЫХ МИКРОМИЦЕТОВ ИЗ ГОРЯЩИХ ОТВАЛОВ ДОБЫЧИ УГЛЯ НА МЕСТОРОЖДЕНИИ БУНГУРСКИЙ СЕВЕРНЫЙ

Соколянская Л.О., Калинина А.Е., Глухова Л.Б., Иванов М.В., Карначук О.В.

Кафедра физиологии растений и биотехнологии, Томский государственный университет»,
Томск, Lusi5055@yandex.ru

Термофилы составляют значительно меньшую часть всех известных грибов, по сравнению с бактериями и археями. При этом грибы-термофилы имеют большое практическое значение как источник термостабильных ферментов. Современная классификация термофильных грибов относит большинство из них к четырем порядкам - *Sordariales*, *Eurotiales*, *Mucorales* и *Onygenales*. До сих пор основными источниками получения культур термофильных микромицетов и базидиомицетов являлись отходы сельского хозяйства, содержащие остатки растений, и компост. Одной из малоизученных экосистем являются горящие отвалы угольных шахт, где термофильные грибы могут колонизировать высокотемпературные биотопы. Целью настоящего исследования был поиск культивируемых термофильных изолятов микромицетов из горящих отвалов угольных шахт. Объектом исследования были отвалы угля на месторождении Бунгурский Северный (Новокузнецк, Кемеровская область). Пробы грунта были отобраны на отвалах с выходами подземного горения в виде фумарол, оконтуренных кристаллами серы. Температура в местах выхода составляла от 50 до 90 оС. Пробы отбирали в июле и ноябре 2018.

Посевы микромицетов проводили как на агаризованную среду, так и с использованием специализированных «ловушек» для мицелия. В качестве питательной среды использовали твердую среду Чапека с мальтозой, а также среду, предложенную Тсуджиями с соав. (Tsujiyama et al., 2013). Последующие выделения чистой культуры проводили на жидкой среде. Для подавления роста бактерий вносили хлорамфеникол в концентрации 200 мг/л. Посевы инкубировали при температурах 50 и 55 оС.

Было получено 10 изолятов микромицетов, растущих при температуре 50оС и один изолят – при 55 оС. Определение последовательности межспейсерного региона ITS показало, что все изоляты относились к порядку *Eurotiales* и большинство из них были родственниками *Aspergillus fumigates* и один изолят – *Thermomyces lanuginosus*. Насколько мы можем судить, микромицеты этой группы впервые выделены из горящих отходов добычи угля. Дополнительное определение последовательностей белковых маркеров CaM, BenA и RPB2 показало, что некоторые из изолятов могут представлять новые виды. Дополнительно была изучена устойчивость изолятов к меди и определена возможность образовывать внеклеточные везикулы, содержащие медь.

Отбор проб и выделение штаммов поддержано грантом РФФИ № 19-04-00981, изучение образования внеклеточных везикул – грантом РФФИ № 18-34-00510

ДЕЙСТВИЕ НЕЙРОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА БИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЮ *ESCHERICHIA COLI* K12 TGI

Сорокина Е.В., Водолазов И.Р., Олескин А.В.



Человеческий организм населен множеством микроорганизмов. Среди используемых ими для коммуникации сигналов представлены нейромедиаторы. Данная работа посвящена микробным эффектам некоторых из них.

Эффекты нейромедиаторов оценивали по их влиянию на свечение биосенсора - штамма *Escherichia coli* K12 TGI, в который введен lux-оперон светящейся почвенной бактерии *Photorhabdus luminescens* ZMI.

Путресцин, ацетилхолин, таурин, индол стимулировали (в концентрациях 0.1 - 10 мкМ) люминесценцию *E. coli* K12 TGI. В более высоких концентрациях они (кроме ацетилхолина) ослабляли свечение биосенсора.

Мы предполагаем регуляторный (рецептор-зависимый) эффект тестируемых нейрoхимических агентов на *E. coli* K12 TGI. Их высокие концентрации могут подавлять люциферазу или действовать как разобщители.

Ключевые слова: нейромедиаторы, люминесценция, токсическое действие, регуляция

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРООРГАНИЗМОВ ВЕЧНОЙ МЕРЗЛОТЫ ОЗЕРНОГО И МОРСКОГО ГЕНЕЗИСА

¹Спирина Е.В., ²Юнусова А.К., ³Петровская Л.Е., ⁴Суханов А.Ю., ¹Ривкина Е.М.

¹Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, el.spirina@gmail.com

²Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино

³Институт биоорганической химии РАН им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Москва

⁴Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биотехнологический факультет, Москва

Экосистемы вечной мерзлоты являются источником жизнеспособных микроорганизмов и продуктов их метаболизма. В древних отложениях Арктики обнаружены фотосинтетики, сохранившие фотосинтетический аппарат, изучены спектральные характеристики фикобилинов и хорофиллов. Из озерно-аллювиальных отложений амплифицирован ген бактериородопсина *Exiguobacterium sibiricum* (ESR), сконструирован штамм-продуцент этого белка и впервые проведена его характеристика. Благодаря расшифровке генома *Psychrobacter cryohalolentis*, выделенного из криопэггов клонированы гены холодоактивных липаз *EstPc* и *LipPc*, получены и описаны физико-химические свойства белков *EstPc* и *LipPc*, показана их термостабильность в широком диапазоне температур.

Цель исследований – показать, что вечная мерзлота озерного и морского происхождения является источником новых биомолекул, перспективных для биотехнологии. В работе использован комплексный подход, включающий методы общей бактериологии и молекулярно-генетические подходы.

Из криопэггов Арктики выделены продуценты липаз, отнесенные к родам *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Citricoccus* и *Paenibacillus*, которые гидролизovali широкий спектр субстратов как в присутствии NaCl, так и без нее.

Из мерзлоты морского происхождения п-ова Гыдан выделен штамм *Microbacterium* sp. Gd 4-13, продуцирующий новую сайт-специфическую эндонуклеазу рестрикции MspGI. MspGI – единственная рестриктаза, которая гидролизует ДНК с образованием 3'-выступающих концов (5'-GCCGG C-3') и активна в широком диапазоне температур 37-60°C с оптимумом активности при 42°C, что значительно выше оптимальной температуры роста штамма-хозяина. MspGI работает оптимально в присутствии 10 mM Mg²⁺, в отсутствие Na⁺/K⁺.



Проведено полное секвенирование генома *Microbacterium* sp. Gd 4-13. Анализ аннотированных белков по базе данных *InterPro* с использованием *InterProScan* v.5.23-62.0 показал, что геном содержит гены, участвующие в устойчивости к антибиотикам и токсическим соединениям, а также гены белков, связанных с окислительным стрессом, и белков холодового и теплового шока. Обнаружены последовательности генов эстераз, липаз, целлюлазы и альфа- и бета-амилазы.

Показано, что вечномерзлые отложения морского генезиса являются источником бактерий-продуцентов белков и ферментов перспективных для использования в биотехнологических целях.

Работа выполнена при поддержке государственного задания АААА-А18-118013190181-6 и грантов РФФИ № 19-04-01240, 17-00-00165 комфи.

МИКОБИОТА И ОЦЕНКА РИСКА ХИМИЧЕСКОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ПОЧВ

Терехова В.А., Федосеева Е.В., Иванова А.Е., Пукальчик М.А.,
Верховцева Н.В., Якименко О.С.

МГУ имени М.В. Ломоносова, vterekhova@gmail.com

Ключевые слова: микробиоты, экологическая оценка, почвы, надежность биотических индексов.

Микробные характеристики почв относят к чувствительным индикаторам почвенного «здоровья». Большая численность и разнообразие микроорганизмов в почвах обуславливают их высокий метаболический потенциал. На этом основании параметры изменения структурных и функциональных микробных сообществ используют для нормирования антропогенного воздействия на почвы. Экспериментальное же обоснование возможности эффективного применения индексов состояния почвенной микробиоты, включая грибы, для оценки экологического риска, в частности, широко распространенного полиметаллического загрязнения почв, несмотря на многочисленные публикации, для разных типов почв во многих случаях отсутствует.

Цель работы – изучить стабильность характеристик почвенной микробиоты (грибов и бактерий) в образцах почв разного гумусного статуса при загрязнении тяжелыми металлами для выявления индикаторной значимости этих биотических показателей. Проведен анализ изменений структурных и функциональных параметров микробиоты почв в ответных реакциях на химическое загрязнение солями цинка, меди и свинца (по 5 ОДК) в контролируемых условиях в продолжительной динамике. В образцах чернозема (Воронежская область, Сорг. 5,4%) и агрозема, обедненной агрогенной трансформацией (рисовые поля Калмыкии,) в вариантах без внесения и с внесением комплекса солей Zn, Cu, Pb проанализированы показатели общей биомассы грибов, бактерий, структурное разнообразие, метаболические коэффициенты, ферментативная активность и ряд других признаков. Изучение динамики количественных и качественных характеристик микробиоты проводили как традиционными методами посева, хроматографии, так и по биохимическим маркерам, включая анализ липидных профилей почв (метод ГХ-МС), ПЦР-диагностику стерильных колоний. При анализе стабильности биоиндикационных критериев в период 120-ти суточной инкубации почв в контролируемых лабораторных условиях выявлены особенности динамических изменений в двух разных почвах, содер-

жание органического углерода в которых заметно различается (5,4 и 1,5 %).

Можно заключить, что показатели тотальной биомассы не являются надежным биоиндикационным индексом состояния почвенных микробных сообществ при полиметаллическом загрязнении в почвах, различающихся по гумусному статусу. В регулировании состояния микробиоты воздействие такой нагрузки как комплекс солей Zn, Cu, Pb при 5 ОДК оказалось менее значимым фактором, чем степень гумусированности почв.

Работа выполняется по проекту РФФИ 18-04-01218-а

ПЕРСПЕКТИВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОБЫЛЬЕГО МОЛОКА ПРИ СОЗДАНИИ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ДОБАВЛЕНИЕМ КОМПОНЕНТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Толекова Ш.Н.^{1}, Шарманов Т.Ш.¹, Синявский Ю.А.¹*

¹ ТОО «Казахская Академия Питания», Казахстан, Алматы
asel_tan@mail.ru

Аннотация: Правильное питание является очень важным фактором, от которого решается здоровье и благополучие человека. Создание новых, правильных и здоровых продуктов – одна из актуальных проблем пищевой промышленности. Совокупность кобыльего молока и растительного сырья является перспективным направлением в создании новых молочных продуктов, сбалансированных по пищевой и биологической ценности. В статье рассматриваются полезные свойства кобыльего молока и растительного компонента – в виде муки, полученной при помоле семян овса, льна и пшеницы в сочетании с черникой, шиповником и рябиной, а также перспектива использования данного ингредиента, в качестве обогащающего при создании кисломолочных продуктов.

Ключевые слова: кобылье молоко, растительное сырье, закваска, йогурты, кисломолочные продукты.

Создание качественных, биологически полноценных продуктов для профилактики сахарного диабета и ожирения – важнейшая задача, стоящая перед нами, так как все йогурты сейчас выпускают с добавлением сахара. Ее решение не может основываться только на известных технологических решениях, поэтому необходим поиск новых теоретических и практических подходов к разработке технологий кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока и растительного происхождения [1, 2]. Несмотря на то, что молочные продукты практически полностью обеспечивают суточную потребность организма в основных питательных веществах, что позволяет считать их универсальными продуктами, благодаря содержанию кальция, который хорошо усваивается и полезен для костной ткани, других макро- и микроэлементов, белков с хорошим набором аминокислот и необходимых витаминов, сочетание молочного и растительного сырья является перспективным направлением в создании новых молочных продуктов, сбалансированных по пищевой и биологической ценности. Внесение в состав пищевых продуктов компонентов, выработанных из растительного сырья, произведенного в том регионе, где проживает человек, является одним из перспективных направлений обогащения, поскольку оно содержит различные биологически активные соединения, наиболее близкие по гео- и биохимическому составу организму человека [3]. Сбраживание йогуртов комбинированными заквасками с высокой биохимической активностью позволило не только повысить его профилактические характеристики в части снижения риска развития дисбиотических нарушений, но и нормализовать функцию желудочно-кишечного тракта и повысить защитные, иммуностимулирующие характеристики продуктов [4, 5].

Йогурты наряду с полноценным кобыльим молоком богатым кальцием, ПНЖК, низкомоле-



кулярными пептидами, белком, макро- и микроэлементами содержали растительные масла, богатые также полиненасыщенными жирными кислотами, а также витаминами А и Е, С, группы В, существенно повышающие защитные функции организма и снижающие процессы активного накопления свободных радикалов в организме [6].

Отсутствие в продукте сахара, трансизомеров жирных кислот, повышенное содержание пектина и пищевых волокон благоприятно сказывается на работе поджелудочной железы, снижает в определённой степени на нее нагрузку, а низкая калорийность продукта в сочетании с повышенным уровнем пектина и пищевых волокон благоприятно влияет на снижение избыточной массы тела.

Использование семян овса, льна и пшеницы в сочетании с черникой, шиповником и рябиной в качестве обогащающего компонента, содержащего значительное количество легкоусвояемых белков, витаминов, минеральных веществ, является одним из направлений улучшения структуры питания населения для профилактики многих болезней.

Литература

1. Кадырова Р.Х., Жангабылов А.К. Национальные молочные продукты в лечебном питании. – Алма-Ата, Казахстан, 1981. – 106 с
2. Мусина О. Н. Творожные продукты с зерновыми или зернобобовыми компонентами // Молочная промышленность, 2007. № 10. С. 33.
3. Юрченко Н. А. Теоретические и экспериментальные исследования закономерностей формирования сырных продуктов с использованием растительного сырья: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. доктора техн. наук. Кемерово, 2008. 43 с.
4. Решетник Е. И. Исследование влияния растительных компонентов на функциональные свойства сывороточно-растительного продукта // Техника и технология пищевых производств, 2014. № 4 (35). С. 50-56.
5. Канарейкин В.И., Канарейкина С.Г. Разработка йогурта из кобыльего молока для работников с вредными условиями труда // Электронный научный журнал. Нефтегазовое дело. 2015. № 6. С. 467–480.
6. Solaroli, G., Pagliarini, E., & Peri, C. (1993a). Compositional and nutritional quality of mare's milk. Italian Journal of Food Science, 1, 3–10.

ФУНКЦИИ *yih*-КАССЕТЫ ГЕНОВ - ЕСТЬ ЛИ У *ESCHERICHIA COLI* АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ПУТЬ МЕТАБОЛИЗМА ЛАКТОЗЫ?

Тутукина М.Н.^{1,2}, Казнадзей А.Д.², Шелякин П.В.², Белоусова Е.А.³, Гельфанд М.С.^{2,4}

- 1 - Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ “ПНЦ БИ РАН”, Московская область, Пущино
- 2 - Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва
- 3 – Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва
- 4 – Сколковский институт науки и технологий, Москва

Введение. С тех пор, как Жакоб и Моно предложили концепцию *lac*-оперона, считалось, что у *E.coli* есть только один путь метаболизма лактозы, и если его выключить, клетка не сможет существовать. В (Denger, 2014, Nature, 507, 114) была описана кассета *yih*-генов, продукты которых участвуют в сульфогликолизе. С помощью сравнительной геномики мы обнаружили удивительное сходство набора и расположения генов в *yih*-кассете с набором в кассетах утилизации лактозы у ряда стрептококков, стафилококков, шигелл и сальмонелл. Целью работы было проверить возможность участия *yih*-кассеты в метаболизме лактозы у *E.coli* и исследовать механизмы переключения экспрессии ее генов.

Материалы и методы. Гены относили к кассетам на основании их колокализации на хромосоме. Промоторы были предсказаны алгоритмом *PlatProm*, а старты подтверждены *primer extension* и *5'-end RNA-seq*. Экспрессию генов оценивали qRT-PCR, связывание регуляторов было подтверждено EMSA.



Результаты и обсуждение. Экспрессия генов, кодирующих альдолазу (*yihT*), изомеразу (*yihS*) и киназу (*yihV*) при росте на лактозе была активирована на несколько порядков по сравнению с ростом на других источниках углерода. Так как Denger и соавторами было показано, что они активируются в присутствии сероуглеводов, хотя и не столь значительно, то это может указывать на множественную субстратную специфичность соответствующих белков. Были картированы старты транскрипции *yihT*, *yihV* и *yihW* и показано, что один из промоторов *yihT* включается только при росте на лактозе. Как и промоторы остальных генов, при росте на углеводах, отличных от лактозы, он был репрессирован регулятором *YihW*, тогда как в присутствии лактозы репрессия снималась. С AMP-CRP, напротив, является активатором экспрессии *yih*-генов. В соответствии с этим, штамм *E. coli K12lacZ-crp*- был неспособен к росту в присутствии лактозы, а *E. coli K12lacZ-yihW*- рос быстрее дикого типа, что указывает на возможность участия белковых продуктов *yih*-кассеты в альтернативном пути утилизации лактозы.

Закключение. Таким образом, наши данные говорят о возможности существования альтернативных путей метаболизма лактозы у кишечной палочки и потенциальной мультифункциональности белков, закодированных в генах *yih*-кассеты. На следующем этапе мы планируем проверить эту гипотезу, используя методы биохимии и структурной биофизики.

ДРОЖЖИ *CANDIDA PSEUDORUGOSA* – КИШЕЧНЫЙ МИКРОСИМБИОНТ ЛИЧИНОК ЧЕРНОЙ ЛЬВИНКИ *HERMETIA ILLUCENS* И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕСС БИОКОНВЕРСИИ ОРГАНИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ

Ушакова Н.А.¹, Мельников В.Г.², Мачнева Г.А.², Бастраков А.И.¹

1 - ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН, Москва,
naushakova@gmail.com

2 - ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского»
Роспотребнадзора, Москва

Большое внимание исследователей уделяется мухе черная львинка *Hermetia illucens* в связи со способностью насекомого развиваться в культуре и перерабатывать личинками органические субстраты, используя их в качестве корма. Процесс биоконверсии органических субстратов происходит в нестерильных условиях, поэтому актуальны вопросы взаимодействия личинок с микробным сообществом кормового субстрата и влияния отдельных представителей их кишечного микробиоценоза, выделяющихся с экскрементами, на функционирование единой системы. Цель работы – изучение микросимбионтов личинок – дрожжей, выделяющихся в питательный субстрат, и их влияние на процесс биоконверсии оргоанических субстратов. Личинок *H. illucens* выращивали в лабораторных условиях ИПЭЭ РАН на смеси кукуруза-пшеничные отруби-мясокостная мука в трех изолированных контейнерах. По 5 личинок 10-дневного возраста из каждого контейнера были отмыты в физиологическом растворе, гомогенизированы в стерильных условиях и подвергнуты микроскопическому и бактериологическому исследованию. При световой микроскопии мазков из гомогената личинок были выявлены дрожжеподобные клетки, предположительно рода *Candida*. Штамм был выделен и охарактеризован. Дрожжи проявили чувствительность к клотримазолу, итраконазолу, флуконазолу, кетоконазолу и нечувствительны к нистатину и амфотерицину В. На основании идентификации штамма с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии он был отнесен к виду *C.pararugosa*.

Опытное заражение питательной среды для развития личинок *H.illucens* выделенным штаммом *C. pararugosa* (1,5 x 10⁶ КОЕ/г сырой органической массы) показало, что микроорганизм оказал определенное воздействие на популяцию личинок, культивирующихся на таком субстрате. Выявлена двухдневная задержка, по сравнению с контролем, в наступлении стадии предкуколки. Этому соответствовала динамика температуры кормового субстрата: в обоих вариантах субстрат разогревался до 43-45°C, но в варианте с инфицированием *C. pararugosa*



продолжительность периода повышенной температуры была на 2 суток больше. При развитии личинок в зараженном субстрате происходило значительное снижение pH, которое затем повышалось до уровня, характерного для субстрата с развивающимися личинками в контроле, связанным с выделением аммиака при завершении личиночной стадии. Конечное накопление массы личинок в обоих вариантах к 14 суткам различалось незначительно. Погибших личинок не наблюдали. Концентрация штамма *C. pararugosa* в питательной среде на 14-е сутки развития в ней личинок составила 4×10^8 КОЕ/г. Увеличение количества дрожжеподобных грибов при образовании предкулолек связано как с размножением введенного штамма, так и с массовым очищением личинками своего кишечника. Установлено, что штамм *C. pararugosa* является резидентным кишечным микросимбионтом личинок *H. illucens* и не является патогенным для них в условиях соблюдения технологического режима выращивания насекомого.

СИСТЕМА ПОЛИМЕРАЗНО-ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИОФАГОВ *PROTEUS* SPP., *YERSINIA ENTEROCOLITICA*, *ENTEROBACTER* SPP.

Феоктистова Н.А., Мاستиленко А.В., Сульдина Е.В., Васильев Д.А.

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, Ульяновск

Ключевые слова: праймеры, индикация, *Yersiniaphage*, *Enterobacterphage*, *Proteusphage*

Keyword: primers, readout, *Yersiniaphage*, *Enterobacterphage*, *Proteusphage*

В большинстве случаев отнесение нового фагового изолята к известной группе возможно на основании морфологических критериев с подтверждением частичным секвенированием участков генома. Однако для массового скрининга бактериофагов при их выделении и селекции он не является основным. В данном случае оптимальными будут являться амплификационные методы, в том числе полимеразно-цепная реакция (ПЦР).

В виду полученного отрицательного результата экспериментов по индикации бактериофагов *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. помощью аннотированных праймеров ПЦР, цель исследований - разработка специфичных систем их молекулярно-генетической идентификации с учетом проведенного секвенирования геномов. Объекты исследования – бактериофаги Pr – 4 УГСХА, Е7, Ye3-f2, выделенные и селекционированные авторами в 2017 году авторов из объектов внешней среды. Определены специфические фрагменты геномов *Yersiniaphage*, *Enterobacterphage* и *Proteusphage* – ген терминазы. Проведено сравнение с аннотированными аналогами в базе NCBI (*GenBank*) и построено филогенетическое древо каждого из них. В системе Blast установлены специфичные праймеры для индикации и идентификации *Yersiniaphage*, *Enterobacterphage* и *Proteusphage*.

Для индикации *Yersiniaphage* определена пара праймеров TCCGTTGGGGGATAAACACT и TTGCTACTGCAGGGTCATCT, отвечающая оптимальным условиям: GC не более 50%, температура плавления $\approx 58,6^\circ\text{C}$, длина ампликона 330 п.н., длина праймеров 20 п.н.. Подобраны праймеры GTTCGGTATTTCCCGGGTT и TCTGTTACTCGTGTGCCACC для индикации *Proteusphage*, имеющие следующие характеристики: GC не более 55%, температура плавления $\approx 59,9^\circ\text{C}$, длина ампликона 333 п.н., длина праймеров 20 п.н.. Установлены праймеры CCGTACACCGCAATTTGGAA и ATAACSTTCTTCAGCCGCC для индикации *Enterobacterphage*, характеризующиеся следующими показателями: GC не более 55 %, температура плавления $\approx 60^\circ\text{C}$, длина ампликона 690 п.н., длина праймеров 20 п.н.

Получены результаты, подтверждающие специфическую работу праймерных систем при постановке полимеразно-цепной реакции. Разработана система индикации бактериофагов, позволяющая в течение 2-3 часов определять объекты, как для последующего исследования выявленных объектов, так и накопления фаговой биомассы.

Исследования проводятся при поддержке РФФИ №16-44-732038.

ТЕРРИТОРИИ ПОСЕЛКА БЕРИНГОВСКИЙ ЧУКОТСКОГО АВТОНОМНОГО ОКРУГА РОССИИ

Фокина Н.В., Корнейкова М.В., Редькина В.В.

Институт проблем промышленной экологии Севера – обособленное подразделение ФГБУН
Федерального исследовательского центра “Кольский научный центр Российской академии
наук”, Апатиты, nadezdavf@yandex.ru

Исследование численности и разнообразия микроорганизмов было выполнено на территории расселенного поселка Беринговский и одноименного морского порта, расположенного в бухте Угольная Чукотского автономного округа. Данная территория длительное время была подвержена воздействию угольных складов ООО “Берингпромуголь”, что привело к сильному антропогенному нарушению природных тундрово-глеевых почв.

Цель работы – изучение влияния антропогенного загрязнения на численность и разнообразие микробиоты почвы, воды и воздуха исследуемой территории.

Микробиологические анализы выполняли стандартными методами: посевом на плотные селективные питательные среды и прямым микроскопированием.

Было обнаружено, что в почвах антропогенно-загрязненного участка наблюдается рост численности бактерий различных трофических групп (до 5.4 млн кл./г) и разнообразия микрофототрофов, происходит угнетение сообществ микромицетов. Численность микроскопических грибов – мезофилов и психрофилов в почвах антропогенного участка была значительно ниже, по сравнению с условно фоновым, и составляла в среднем 35 и 527 КОЕ/г соответственно. Видовое разнообразие микромицетов на антропогенном участке было богаче, в основном за счет появления случайных видов. В почвах исследуемой территории было обнаружено 45 видов водорослей и цианобактерий. В нарушенных почвах разнообразие микрофототрофов значительно выше, чем в условно фоновых, за счет заметного участия желто-зеленых и диатомовых водорослей, а также цианобактерий.

Численность гетеротрофных микроорганизмов в воде бухты «Угольная» была довольно высокой и колебалась в пределах 1000 – 23000 кл/мл, что сопоставимо с численностью бактерий в воде Кольского залива Баренцева моря, подверженного техногенной нагрузке. Общая численность достигала 3 106 кл/мл. Длина и биомасса грибного мицелия, определенные методом прямого счета, оказались очень низкими и составили 0,024 м/г и 0,000026 мг/г.

Было обнаружено, что в воздухе условно-фоновом участка и грунтов, не имеющих растительного покрова, численность бактерий невысокая, колеблется в пределах 100-120 КОЕ/м³, в то время как в воздухе над моховой растительностью происходит рост численности до 660 КОЕ/м³. Средняя численность микроскопических грибов в воздухе загрязненных участков была примерно в два раза больше по сравнению с фоновым и составила 60 КОЕ/м³, что, в целом, говорит об относительной чистоте воздуха с микологической точки зрения.

Несмотря на невысокую численность микромицетов в воздухе обследуемого района над загрязненным участком было выделено 6 видов грибов, над фоновым – 4 вида. В воздухе загрязненного района доминировал темноокрашенный грибок *Alternaria alternata*, в воздухе фоновом – *Penicillium glabrum*.

В результате проведенного исследования можно говорить о достаточно высокой степени антропогенной нарушенности территории, являющейся следствием механического воздействия и загрязнения почвенного покрова. Работа поддержана РНФ 18-04-00358.

СУЛЬФАТРЕДУКЦИЯ В КИСЛЫХ ТЕРМАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКАХ ПОЛУОСТРОВА КАМЧАТКА

Фролов Е.Н., Бонч-Осмоловская Е.А., Пименов Н.В., Черных Н.А., Меркель А.Ю.



Введение. Диссимиляционная сульфатредукция - важнейший природный процесс, который широко распространён в анаэробных местообитаниях. Несмотря на огромный интерес к физиологии и экологии сульфатредуцирующих прокариот (СРП), в настоящее время практически полностью отсутствуют сведения о процессе диссимиляционной сульфатредукции в термоацидофильных условиях.

Цели и методы исследования. Целью работы является исследование процесса диссимиляционной сульфатредукции в кислых термальных источниках Камчатки. Устойчивые накопительные и чистые культуры СРП были получены путем засева проб воды и осадков на минеральные среды, содержащие целевые субстраты и сульфат. Филогенетическое положение полученных изолятов было определено на основании анализа последовательностей гена *16S rPHK*. Высокопроизводительное секвенирование по геному *16S rPHK* было проведено с использованием системы MiSeq.

Результаты исследования. Был определен таксономический состав 20-ти микробных сообществ высокотемпературных источников Камчатки, вследствие чего удалось установить, что СРП являются минорным компонентом в большинстве исследованных сообществ. Было показано, что СРП относящиеся к *Deltaproteobacteria* (*Thermodesulforhabdus*, *Desulfosoma*), *Nitrospiriae* (*Thermodesulfovibrio*) и *Firmicutes* (*Desulfovibrio*, *Desulfothermobacter*, *Desulfotomaculum*, *Desulfurispora*, *Ammonifex*) обнаруживаются в нейтральных и слабокислых источниках со значениями pH от 5,0 до 7,2 и температурой от 50 до 72 °C, в то время как бактерии рода *Thermodesulfofium* обнаруживаются в умеренно кислых горячих источниках со значениями pH от 4.2 до 6.0 и температурой от 53 до 70 °C. В местообитаниях с экстремально термоацидофильными условиями (pH 3,5 и T 90 °C) за процесс сульфатредукции предположительно отвечают археи филума *Crenarchaeota* (*Vulcanisaeta* и *Thermoproteus*). Кроме того было выделено пять штаммов термоацидофильных СРП, из которых три штамма относились к виду *Thermodesulfovibrio acidiphilum*, один штамм к виду *Desulfothermobacter acidiphilus* и пятый штамм являлся представителем рода *Thermodesulfovibrio* и возможно представляет новый вид.

Заключение. Таким образом, нами были получены сведения о разнообразии и распространении СРП в горячих источниках Камчатки, а также были изолированы новые штаммы СРП из этих источников.

Данная работа была частично поддержана Российским Фондом Фундаментальных исследований (грант № 18-34-00258).

'ANAEROALKALIBACTER TAMANIENSIS' GEN. NOV., SP. NOV. НОВЫЙ АНАЭРОБНЫЙ МИКРООРГАНИЗМ ИЗ ГРЯЗЕВОГО ВУЛКАНА ТАМАНСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Фролова А.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И.

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва, romana2804@gmail.com

Грязевой вулканизм представляет собой широко распространенное геологическое явление: на Земле насчитывается свыше 1700 наземных и подводных грязевых вулканов, более 30ти из которых находятся на Таманском полуострове. Актуальность данной работы заключается в отсутствии ранее проводимых микробиологических исследований грязевых вулканов Тамани. Целью работы являлось выделение чистых культур микроорганизмов-представителей различных физиологических групп из грязевых вулканов Таманского полуострова.

Материалы и методы: Чистая культура была получена в условиях анаэробного культивирования с использованием метода предельных разведений. Секвенирование гена *16s rPHK* для выяснения таксономического положения изолята осуществляли методом Сэнгера.



Из наземного грязевого вулкана Гнилая гора, г. Темрюк была выделена чистая культура (штамм F-Зар) с пируватом в качестве субстрата и в присутствии сульфата. Новый изолят имеет 91.06% сходства нуклеотидной последовательности гена 16S рНК с *Natranaerovirga pectinivora* – анаэробной экстремально галофильной бактерией.

Клетки штамма F-Зар представляют собой неподвижные, Грамм-положительные овальные палочки. Штамм F-Зар растет при температуре от 14 до 42 °С с оптимумом роста 37 °С. Оптимальное значение pH 9.0 – 9.5, при значениях pH ниже 7.0 и выше 11.5 рост не наблюдается. Штамм F-Зар сбраживает трегалозу, мальтозу, фруктозу, ксилозу.

Заключение: На основании фенотипических характеристик и данных филогенетического анализа мы предлагаем отнести штамм F-Зар к новому роду и виду *Anaeroalkalibacter tamaniensis* gen. nov., sp. nov. внутри семейства *Clostridiales*.

Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-74-30025).

НЕКОТОРЫЕ ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БИОГЕОЦЕНОЗОВ ПРИКАСПИЙСКОЙ НИЗМЕННОСТИ (ДАГЕСТАН)

Халилова Э.А., Котенко С.Ц., Исламмагомедова Э.А., Аливердиева Д.А.

Прикаспийский институт биологических ресурсов ДНЦ РАН, Махачкала, eslanda61@mail.ru

Впервые проведены исследования пространственного распределения галофильных микробных сообществ засоленных почв и высокоминерализованных озер в экстремальных экосистемах Прикаспийской низменности. Для исследований выбраны биотопы: Терско – Кумская (солончаки, природное соленое озеро) и Терско – Сулакская провинции (техногенное соленое озеро). Изолировано 10 видов бактерий, которые по данным RDP Classifier принадлежат к представителям *Bacillus*, *Virgibacillus* и *Halomonas* филумов *Firmicutes* и *Proteobacteria* на основании сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рНК - 95 %, что подразумевало новые виды. В результате исследования геномной ДНК определен показатель G+C. В таксономическом отношении бактерии представлены видами *Virgibacillus salaries*, *Virgibacillus marismortui*, *Virgibacillus olivae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus clausii*, *Bacillus pumilus*, *Halomonas ventosae*, *Halomonas gomseomensis*, *Halomonas elongata*, *Salimicrobium halophilum*. Культуры демонстрировали устойчивый рост к 5-25 % NaCl и температуре 30 С и 37 С. Штамм *S. halophilum* отличался жизнеспособностью практически на всех средах с NaCl, образуя тонкую или плотную пленку. Продemonстрирована способность *V. marismortui*, *H. ventosae* продуцировать каталазу и амилазу; *H. elongata* и *S. halophilum* - исключительно амилазу. Протеазной активностью обладали 70 % штаммов, амилолитической – 90 %, каталазной – 80 %. Культуры *B. clausii*, *B. pumilus*, *V. salaries*, *V. olivae* и *H. gomseomensis* были активны на 100 % по всем показателям. Исследование восприимчивости галофильных бактерий к антибиотикам позволило расположить их по патогенности следующим образом: *B. cereus* > *H. ventosae* > *H. elongata* > *V. olivae* > *V. marismortui* > *V. salaries* > *B. clausii* > *S. halophilum* > *B. pumilus* > *H. gomseomensis*.

Таким образом, установлено, что изолированные штаммы являются галофильными, амилазо-, протеазо- и каталазопродуцирующими; восприимчивыми к большому перечню антибиотиков из групп фторхинолонов, цефалоспоринов, сульфаниламидов и макролидов. Выявленные доминанты уникальных микробных сообществ в провинциях Прикаспийской низменности являются репрезентативным показателем таксономической структуры микробиоты, тесно связанной с типом экосистемы. Результаты исследований представляют научный и практический интерес для изучения биоразнообразия галофильных бактерий и их биотехнологической значимости.



ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА НА ПОВЫШЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ АКТИНОМИЦЕТОВ

Хасенова А.Х., Турлыбаева З.Ж., Султанова А.

ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», Алматы, Казахстан,
k.anara@mail.ru

Одной из основных проблем современной медицины является лекарственная устойчивость патогенных микроорганизмов. Это актуальная клиническая и эпидемиологическая проблема дает толчок для непрерывного поиска новых перспективных антибиотиков. Повышение антибиотической активности штамма-продуцента можно добиться индуцированным мутагенезом.

Цель работы повышение антибиотических свойств вторичных метаболитов актиномицетов методом химического мутагенеза.

Объектом исследований служил изолят актиномицета из образцов ризосферы лекарственного растения гармалы (*Peganum harmala*), антагонистические свойства которого были исследованы в отношении лабораторных коллекционных грамположительных (*Bacillus subtilis* ATCC 6633) и грамотрицательных (*Comamonas terrigena* ATCC 8461) тест-микроорганизмов.

Для проведения индуцированного мутагенеза выбран изолят Г8 с широким спектром активности. В качестве химического мутагена был использован алкилирующий агент N-нитрозо-N-этилмочевина. Суспензию спор исходного штамма (титр разведения 103) обрабатывали N-нитрозо-N-этилмочевинной в фосфатном буфере (pH=8,0) в концентрации 300 мг/мл в течение 30, 60, 120, 180 минут при 30°C по стандартной методике (Миллер, 1976), высевали на исходную среду и культивировали при 28°C в течение 5–6 суток. Проводили отбор мутантов по признаку высокой антагонистической активности методом агаровых блоков. Секвенирование фрагментов гена 16S rRNA актиномицета проводили на автоматическом секвенаторе 3500 DNA Analyzer (Applied Biosystems, США) с использованием набора Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США).

В результате проведенных экспериментов установлено, что мутантные штаммы с высокой антагонистической активностью появляются при обработке N-нитрозо-N-этилмочевинной в данной концентрации в течение 120 минут и выше. Высокую активность проявил клон мГ8-13. Антагонистическая активность мутантного штамма превысила активность исходного штамма более чем в 2,5 раза. С целью генетической идентификации полученного мутантного штамма мГ8-13 было проведено секвенирование исходного и полученного штаммов. Отмечается мутация в 16S rRNA гене штамма в виде делеции.

В результате химического мутагенеза получен новый продуцент антибиотика мГ8-13 перспективный для дальнейших исследований.



НОВЫЕ АНАЭРОБНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ИЗ ГРЯЗЕВЫХ ВУЛКАНОВ ТАМАНСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Хомякова М.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Слободкин А.И.

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва,
mary__klimova@mail.ru

Грязевой вулканизм - геологическое явление, связанное с залеганием углеводородов и оказывающее существенное влияние на баланс атмосферного метана. Выносимые на поверхность продукты грязевого вулканизма дают информацию о вещественном составе недр. На Таманском полуострове насчитывается более 30 действующих наземных грязевых вулканов, систематические микробиологические исследования которых ранее не проводились.

Чистые культуры микроорганизмов получали с использованием техники анаэробного культивирования. Секвенирование гена 16S рРНК для выяснения таксономического положения изолятов осуществляли методом Сэнгера.

Из грифона грязевого вулкана Гнилая гора (г. Темрюк) выделены две чистые культуры. Штамм M04МФ, выделенный с метоксифенолом в качестве субстрата, имел 99% сходства нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК с *Acetobacterium carbinolicum* – облигатно анаэробной гомоацетогенной бактерией. Штамм M04Ac, образующий метан при культивировании на ацетате, имел 99% сходства с ацетокластической метаногенной археей *Methanosaeta harrundinacea*. Поскольку ни один из валидированных к настоящему времени представителей *Methanosaeta* не способен к росту в алкалофильных условиях, мы не исключаем, что изолят имеет обособленное видовое положение.

Из сальзы грязевого вулкана Карабетова гора (ст. Тамань) выделен штамм M08 использующий диметоксибензоат в качестве источника углерода и энергии. Данный изолят имеет 95.17% сходства нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК с бактерией *Alkalibaculum bacchi*, относящейся к классу *Clostridia*. Штамм M08 способен метаболизировать различные субстраты – как многочисленные органические соединения, так и CO:H₂ с образованием ацетата. Изолят способен к росту при pH > 8.5 и температуре до 50 С.

Таким образом, из наземных грязевых вулканов Таманского полуострова удалось выделить новые изоляты облигатно анаэробных микроорганизмов, являющихся алкалифилами и принадлежащих к разным филогенетическим группам.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант №17-74-30025).

ДИССИМИЛЯЦИОННАЯ СУЛЬФАТРЕДУКЦИЯ: АНАЛИЗ ФЕНОТИПИЧЕСКИХ И ГЕНОМНЫХ ПРИЗНАКОВ

Черных Н.А., Фролов Е.Н., Меркель А.Ю.

ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Москва,
chernyh3@yandex.ru

Диссимиляционная сульфатредукция (ДСР) является основным процессом современного биогеохимического цикла серы. ДСР также является важным компонентом в углеродном цикле, особенно в морских отложениях, где этот процесс играет существенную роль в реминерализации углерода. Способность ДСР обнаруживается в нескольких филах домена бактерий, включая *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Thermodesulfobacteria*, *Nitrospirae*. Среди архей способность к ДСР присутствует в роде *Archaeoglobus* из *Euryarchaeota*, который включает в себя анаэробные, гипертермофильные и нейтрофильные организмы, обитающие в подводных ловушках и



глубоководных термальных средах с повышенной соленостью. Способность ДСР была описана также для некоторых членов семейства из типа *Crenarchaeota*, включая *Caldivirga maquilingensis*, *Vulcanisaeta distributa*, *V.souniana* и *Thermoproteus tenax* и ряда некультивируемых глубоких линий *Aigarchaeota*, *Hydrothermarchaeota* и *Korarchaeota*. Однако подробные экспериментальные доказательства ДСР никогда не были показаны как для представителей *Thermoproteaceae*, так и для некультивируемых архейных форм. Основным фенотипическим доказательством ДСР является накопление сероводорода в процессе сульфатно-зависимого роста. Геномные детерминанты способность к ДСР определяется конкретным набором белков, которые включают сульфат-транспорт(е)р(ы), сульфат-аденилаттрансферазу (Sat), пирогидрофосфатазу (PpaC или HppA), аденозинфосфосульфат (APS) редуктазу (AprAB), диссимиляционную сульфитредуктазу (DsrAB) и его субстрат DsrC, и, наконец, два мембранных комплекса, QmoABC и DsrMKJOP (из которых только QmoAB и DsrMK наиболее важны). Sat, AprAB и QmoABC-белки участвуют в восстановлении сульфата до сульфита, а белки DsrABCMKJOP восстанавливают сульфит до сульфида.

В данном докладе на основании экспериментальных данных, а также на основании анализа, как отдельных геномов, так и метагеномов будет обсуждаться способность к ДСР у ряда культивируемых и некультивируемых организмов.

НАПРАВЛЕННАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЭКСПРЕССИОННОЙ СИСТЕМЫ В БАКТЕРИЯХ *RHODOCOCCUS RHODOCHROUS*

Шемякина А.О., Гречишникова Е.Г., Новиков А.Д., Калинина Т.И., Лавров К. В., Яненко А.С.

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, genetika@genetika.ru

Бактерии *Rhodococcus* являются перспективными микроорганизмами для конструирования биокатализаторов, используемых в биотехнологии. На сегодняшний день с помощью клеток *Rhodococcus* успешно коммерциализованы процессы получения акриламида, акриловой кислоты, никотинамида, и разрабатывается ряд новых процессов. Экспрессионная система в бактериях *Rhodococcus*, сконструированная нами ранее, основана на сильном промоторе генов нитрилгидратазы (Pнг) и обеспечивает синтез целевого фермента до 50% от растворимых внутриклеточных белков. Цель данной работы – изучение направленного регулирования экспрессионной системы на основе промотора Pнг в *R. rhodochrous*.

В работе использовали штаммы *R. rhodochrous* M33, содержащий гены нитрилгидратазы под контролем Pнг, и *R. rhodochrous* M33 aam, содержащий под контролем Pнг ген ациламидазы aam из *R. erythropolis* TA37. Для оценки активности промотора использовали транскриптомный анализ, RT-qPCR и измерение ферментативной активности.

Показано, что активность Pнг независимо индуцируется амидами (в т.ч. мочевиной), ионами кобальта и подвержена катаболитной репрессии-дерепрессии. Путём комбинирования в питательной среде недорогих компонентов оказалось возможным варьировать удельную активность клеток в диапазоне трёх порядков. Индукция Pнг достигала максимального уровня при одновременном использовании следующих добавок: ацетат, мочевина, кобальт. Относительные уровни мРНК хорошо коррелировали с активностями репортёрных ферментов.

Использование сильных и хорошо регулируемых промоторов является важным компонентом при разработке бактериальных продуцентов, однако экспрессионный инструментарий для бактерий *Rhodococcus* разработан недостаточно. Представленные результаты создают базис для эффективного конструирования биокатализаторов и продуцентов метаболитов на основе этих бактерий.

Финансирование: работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (соглашение № 16-14-00216).



Геохимическая активность микромицетов обуславливает их свойства как наиболее агрессивных биодеструкторов строительных материалов. Причинами биоповреждений являются три основных процесса: механический; ассимиляционный, когда материалы являются источником питания и энергии микроорганизмов; и диссимиляционный, при котором происходит взаимодействие материалов с агрессивными микробными метаболитами, кислотами и ферментами. Наиболее разрушающее воздействие биокоррозии оказывает на конструкции в городах, имеющих большую водную акваторию. Различные виды микроорганизмов, включая патогенные, и в первую очередь грибы *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, заселяя поверхности минеральных строительных материалов, обуславливают их деструкцию, нарушают экологический баланс городов и подвергают опасности здоровье людей. Биокоррозия этих материалов – не только проблема разрушения объектов культуры, промышленных и жилых зданий. Последствия биокоррозии бетонных конструкций для здоровья жителей города, проводящих 95% времени в помещениях, проявляются в так называемом «синдроме больных зданий».

Целью настоящей работы стала оценка уровня биоповреждений модельных образцов бетонных конструкций, представленных в виде балок размером 160 40 40 мм по ГОСТ 310.4-81 на основе портландцементов М400 ЦЕМ II/A-П 32,5 Н и М500 ЦЕМ I 42,5 Н, по результатам анализа метаболической активности доминирующих микромицетов, выделенных из городских зданий, и экспериментального тестирования прочностных характеристик бетона.

Идентификация изолятов проведена на основе анализа секвенирования ITS региона. Геохимическая деятельность микромицетов охарактеризована по параметрам биообрастания образцов, радиальной скорости роста, синтезу органических кислот и антагонистической активности. Определена генотоксичность экзометаболитов доминирующих микромицетов. Визуальные характеристики биокоррозии получены с использованием сканирующей зондовой и автоэмиссионной электронной микроскопии, зафиксировавшей образование кальцификатов на поверхности образцов и вклад диссимиляционной биодеструкции, а именно элиминации кальция под действием органических кислот, в повреждение бетонных конструкций.

Одним из важных результатов анализа коэффициентов прочности конструкций при изгибе и сжатии до и после экспозиции с микромицетами стало обоснование рекомендаций протокола испытаний, отличного от ГОСТ 9.048-89 «Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов». Сравнение результатов тестов, проведенных согласно ГОСТ, и тестов с более длительным временем инкубирования образцов с микромицетами позволяет обосновать прогностические данные разрушения бетона.

ГНИЮЩАЯ ДРЕВЕСИНА КАК ИСТОЧНИК МИКРООРГАНИЗМОВ, ОБРАЗУЮЩИХ НОВЫЕ ПРОМЫШЛЕННО-ВАЖНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Мариана Фил¹; Оскар Веласко-Родригес¹; Катарина Козалкова¹; Алберто Сола-Ланда¹; Карлос Баррейро^{1,2}

1) ИНБИОТЕК (Институт Биотехнологии г. Леон). Научный Парк г. Леон Le n 24006, Леон, Испания 2) Отдел Молекулярной биологии, Университет г. Леон, Кампус Понферрада, Асторджа, 24401 Понферрада, Испания
c.barreiro@unileon.es / carlos.barreiro@inbiotec.com

Введение: Деревообрабатывающая промышленность в Европе оценивается в сумму более 200 млрд. €; в ней заняты более 2.1 млн работников (EU27). Новые технологии, применяемые в строительстве из деревянных материалов, мебельной промышленности, защите культурных ценностей представляют глобальный интерес в связи с неизбежной деградацией древесины. Основной причиной гниения древесины является колонизация ее грибами, разрушающими различные компоненты дерева, однако наряду с ними существуют бактерии и другие грибы, препятствующие деградации. Основной целью этой работы являлось выделение, идентификация и оценка бактерий и грибов, обитающих в гниющей древесине, а также выявление микроорганизмов, которые могут обеспечить защиту древесины от деградации.

Материалы и методы: Образцы дерева из: Виллавейя (Леон, Испания) и Бимарка (Тронхайм, Норвегия); селективные среды: для грибов (ПДА, МИА), бактерий (НА, Р2А); прямой сравнительный биоанализ; детекция PKSs и NRPS с помощью ПЦР; тестирование ингибирования роста мицелия.

Результаты и обсуждение: 26 образцов древесины были собраны из двух мест различного географического положения. Из образцов было выделено и идентифицировано 720 микроорганизмов. 420 грибных изолятов были отнесены к трем филумам, 29 порядкам и 78 родам (один род на каждые 5.3 изолята). 300 бактериальных изолятов относились к четырем филумам, 18 порядкам и 50 родам (один род на каждые 6 изолятов). Результаты свидетельствуют о широком разнообразии микроорганизмов, присутствующих в гниющей древесине.

Было проведено 156 сравнительных биоанализов. 19% тестируемых микроорганизмов показали высокий ингибирующий потенциал в отношении роста 5 грибов, напрямую связанных с гниением древесины.

Были отобраны актинобактерии и пенициллы для выявления присутствия генов PKSs или NRPS (вовлеченных в синтез антибиотиков). Подавляющее большинство представителей *Penicillium* (80.6%) обладало такими генами, а среди актинобактерий большое число представителей (69%) имели по крайней мере один из генов, связанных с продукцией антибиотиков.

Заключение: Гниющая древесина представляет собой интересный источник для выделения микроорганизмов, которые могут быть способны уменьшить гниение древесины; более того, это обширная ниша для выделения продуцентов антибиотиков.

Работа выполнялась в рамках проекта ЕС ПроВуд (ProWood) (Защита дерева и производных с помощью новых биопокровов, Wood and derivatives protection by novel bio-coating solutions), в рамках программы ERA-IB 7th через APCIN MINECO (Spain) (ID: PCIN-2016-081).



WOOD DECAYED AS A HUGE SOURCE OF NEW INDUSTRIALLY-RELEVANT COMPOUNDS

Mariana Fil¹; scar Velasco-Rodríguez¹; Katarina Kosalkova¹; Alberto Sola-Landa¹; Carlos Barreiro^{1,2}

1) INBIOTEC (Instituto de Biología de León). Avda. Real 1 - Parque Científico de León 24006, León, Spain. 2) Departamento de Biología Molecular, Universidad de León, Campus de Ponferrada, Avda. Astorga s/n, 24401 Ponferrada, Spain
c.barreiro@unileon.es / carlos.barreiro@inbiotec.com

Introduction: The woodworking industry moves currently more than 200€ billion and employs more than 2.1 million workers in Europe (EU27). New ways of wood construction, furniture industry and protection of the cultural heritage have increased the global interest about the wood degradation. Although the main reason of wood decay is the colonization by fungi that can degrade different components of the wood, other bacteria and fungi that are able to antagonize the degraders are also present. Thus, the main objective is the isolation, identification and evaluation of bacteria and fungi, which are present in the decay wood, focusing on the microorganisms that can protect the wood of degradation.

Materials and methods: Wood samples from: Villavieja (León, Spain) and Bymarka (Thronheim, Norway); selective media: fungi (PDA, MIA), bacteria (NA, R2A); direct competence bioassay; detection of PKSs and NRPS by PCR; test of mycelia growth inhibition.

Results and discussion: 26 wood samples were collected from two geographical locations. As a result, 720 microorganisms were differentially isolated and identified from these samples. The 420 fungal isolates were assigned to three phyla, 29 orders and 78 genera (one different genus every 5,3 isolates). The 300 bacterial isolates were assigned to four phyla, 18 orders and 50 genera (one different genus every 6 isolates). This shows the great variety of microorganisms present in the decayed wood.

156 competence bioassays were carried out. 19% of the tested microorganisms showed a high inhibition potential to the growth of 5 fungi directly related with wood decay.

Actinobacteria and *Penicillium* species were selected to screen the presence of PKSs or NRPS genes (involved in antibiotics production). The vast majority of *Penicillium* (80.6%) has some of the genes, and in the case of *Actinobacteria* a large number of species (69%) have at least one of the genes related with the production of antibiotics.

Conclusion: The decayed wood is an interesting environment for the isolation of microorganisms that can be able to reduce the wood decay; moreover, it is a great niche for new antibiotic producers.

Special thanks to the EU project ProWood (Wood and derivatives protection by novel bio-coating solutions) from the ERA-IB 7th call through the APCIN call of the MINECO (Spain) (ID: PCIN-2016-081).

СТЕРОИДЫ ИНДУЦИРУЮТ ИЗМЕНЕНИЯ В ЦЕНТРАЛЬНОМ МЕТАБОЛИЗМЕ *MYCOLICIBACTERIUM (MYCOBACTERIUM) NEOAURUM*

Эсмеральда Цебриан-Састре¹, Карлос Баррейро^{1,2},
Антонио Родригес-Гарсиа¹, Алберто Сола-Ланда¹

1) ИНБИОТЕК (Институт Биотехнологии г. Леон). Научный парк г. Леон, Испания 2) Отдел Молекулярной биологии Университета г. Леон, Кампус Понферрада, Асторджа, 24401 Понферрада, Испания alberto.sola@inbiotec.com

Введение: Микробная биотрансформация фитостероидов в стероидные предшественники широко применяется в промышленной биотехнологии. Однако, ингибирующее влияние стероидов на микроорганизмы-продуценты снижает эффективность биоконверсии в промышленных процессах. *Mycolicibacterium* (ранее - *Mycobacterium*) *neoaureum* NRRL B-3805 является UV-мутантом почвенного изолята, который эффективно деградирует боковую цепь фитостероидов с получением андрост-4-ен-3,17-диона (АД) и андроста-1,4-диен-3,17-диона (АДД). Ранее нашей группой был секвенирован полный геном этого штамма (PMID: 26988397), что позволи-



ло разработать омикс-анализы. Целью настоящей работы являлась идентификация ключевых генов, вовлеченных в устойчивость к стероидам на основе сравнения дифференциальной экспрессии между клетками, выращенными в присутствии или отсутствии АД (или АДД).

Материалы и методы: Клетки культивировали в среде определенного химического состава, содержащей глицерин или глицерин с АД (или АДД). Внутри- и внеклеточные клеточные протеомы анализировали с помощью 2D-DIGE, и белки последовательно идентифицировали с помощью MALDI-TOF/TOF масс-спектрометра. Анализ транскриптомов проводили секвенированием кДНК на *Illumina* NextSeq 500 в одноконцевом режиме с длиной чтений 75 bp.

Результаты и обсуждение: Анализ результатов показал, что профили экспрессии четко соотносятся с добавлением стероидов. Присутствие в культуральной среде АД и АДД ингибирует рост *M. neoaurum* NRRL B-3805 снижением центрального метаболизма через ингибирование гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, аэробного дыхания и основных биосинтетических путей, значимых для ингибирования биосинтеза жирных кислот.

Закключение: Модификация с помощью генетической инженерии экспрессии основных идентифицированных генов позволит сконструировать новые штаммы для более эффективного производства стероидов в промышленных условиях.

Эта работа является частью проекта Синтероидз (Синтетическая биология для промышленного производства стероидов) (Synthetic biology for industrial production of steroids; Эра-Ко_БиоТех) через Министерство Науки, Инноваций и Университетов Испании (Reference PCI2018 093066).

STEROIDS INDUCE CHANGES IN CENTRAL METABOLISM OF MYCOLICIBACTERIUM (MYCOBACTERIUM) NEOAURUM

Esmeralda Cebrián-Sastre¹, Carlos Barreiro^{1,2}, Antonio Rodríguez-García¹ and Alberto Sola-Landa¹

1) INBIOTEC (Instituto de Biotecnología de León). Avda. Real 1 - Parque Científico de León 24006, León, Spain. 2) Departamento de Biología Molecular, Universidad de León, Campus de Ponferrada, Avda. Astorga s/n, 24401 Ponferrada, Spain
alberto.sola@inbiotec.com

Introduction: Microbial biotransformation of phytosterols into steroid precursors is a well-established application of industrial biotechnology. However, the inhibitory effect of steroids over producer microorganisms reduces the conversion efficiency in industrial processes. *Mycolicibacterium* (formerly *Mycobacterium*) *neoaurum* NRRL B-3805 is a UV-mutant from a soil isolate that efficiently degrades the phytosterols side chain producing the steroid precursors androst-4-ene-3,17-dione (AD) and 1,4-androstadiene-3,17-dione (ADD). The complete genome of this strain was previously sequenced by our group (PMID: 26988397), allowing the development of omics analyses. The objective of this work was to identify the key genes involved in steroid resistance by means of a differential expression comparison between cells cultured in media with or without AD (or ADD).

Materials and methods: Cells were cultured in defined medium containing glycerol or glycerol plus AD (or ADD). Intra- and extra-cellular proteomes were analyzed by 2D-DIGE and proteins were subsequently identified by means of a MALDI-TOF/TOF mass spectrophotometer. Transcriptomics analysis was carried out sequencing the cDNA on an *Illumina* NextSeq 500 in single-end mode, 75 bp of read length.

Results and discussion: The analysis of the results showed expression profiles clearly conditioned to steroids addition. The presence in the culture medium of AD and ADD inhibit the growth of *M. neoaurum* NRRL B-3805 by reducing its central metabolism through the inhibition of the glycolysis, the tricarboxylic acid cycle, the aerobic respiration and the main biosynthetic pathways, being remarkable the inhibition of fatty acids biosynthesis.



Conclusion: The modification of the expression by genetic engineering of the main genes identified will allow the construction of new strains for higher steroid production in industrial conditions. This work forms part of the Syntheroids project (Synthetic biology for industrial production of steroids; ERA-CoBioTech 1st call) through the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities (Reference PCI2018-093066).

ЦИАНОБАКТЕРИИ СОДОВО-СОЛЕННЫХ ОЗЕР ЗАБАЙКАЛЬЯ: РАЗНООБРАЗИЕ, ЭКОФИЗИОЛОГИЯ, ТАКСОНОМИЯ

Цыренова Д.Д., Бархутова Д.Д.

Солоноватые и соленые озера широко распространены в аридных зонах нашей планеты. Они представляют собой уникальные экосистемы, в которых экстремально высокие значения pH сочетаются с высокими концентрациями солей вплоть до насыщающих [1]. Такие озера являются местом активной деятельности алкалофильных микроорганизмов, в том числе цианобактерий, являющихся основным продуцентом органического вещества [2, 3]. Высокая функциональная активность цианобактерий в экстремальных экосистемах обусловлена присущей им физиологической пластичностью и быстрой реакцией на изменение физико-химических параметров среды.

В ряде озер Байкальского региона ранее было изучено видовое разнообразие и экофизиология цианобактерий [4; 5], и настоящая работа является продолжением этих исследований по анализу видового состава, цианобактерий, выделению чистых культур, определению их экофизиологических характеристик и таксономического положения. Цель работы являлось изучение видового состава цианобактерий содово-соленых озер Забайкалья, выделение чистых культур, определение их экофизиологических характеристик и таксономического положения.

Методы исследования

Определение физико-химических параметров воды озер и отбор проб проводили по общепринятой методике [6]. Определение таксономической принадлежности цианобактерий проводили по Комареку и Анагностидису [7, 8]. Для оценки сходства или различия таксономического спектра цианобактерий в озерах был применен коэффициент флористической общности Жаккара, модифицированный Малышевым [9]. Выделение культур цианобактерий проводили путем пересева на агаризованные среды. Изучение особенностей роста цианобактерий в градиенте pH-минерализация. Проводили в диапазоне pH от 7.5 до 9.5 и концентрации NaCl (г/л): 0, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 150, 200, 250, 300. Выращивание цианобактерий проводили в условиях лабораторного люминистата с освещением на поверхности среды 2000 лк. Выделение ДНК проводили фенол-хлороформным методом. Ген 16S rPHK амплифицировали с универсальными эубактериальными праймерами. (ПЦР) проводили на приборе GeneAmp PCR System 2700 ("Applied Biosystems", США).

Результаты исследования

Объектами исследования являлись 12 озер Забайкалья. Исследованные озера в большинстве случаев характеризовались нестабильным водным режимом, обусловленным резко-континентальным климатом. Воды большинства исследованных озер Забайкалья относились к хлоридно-натриевому и гидрокарбонатно-натриевому типам, к солоноватым водам и рассолам. Значения pH воды находились в щелочной области.

В озерах было обнаружено 32 вида цианобактерий: наибольшее их количество зарегистрировано в низкоминерализованных озерах, наименьшее - в высокоминерализованных. Списки цианобактерий Забайкалья дополнены 10-ю ранее не обнаруженными видами. Анализ видового состава цианобактерий озер Забайкалья с помощью коэффициента флористической общности показал, что в зависимости от физико-химических условий, существующих в озерах, формируются разнотипные микробные сообщества, отличия между которыми выявляются на видовом и родовом уровнях.



Выделено шесть монокультур цианобактерий. Изученные организмы являлись умеренными алкалофилами, имеющими оптимум развития при щелочном pH и способны развиваться при полном отсутствии NaCl в среде и до его концентрации 100 г/л. Культуры Суа 1, Суа 2 и Суа 10 отнесены к роду *Phormidium*. Суа 4 отнесена к виду *Pseudanabaena frigida*. Суа 5 и Суа 6 являлись представителями рода *Nodularia* и имели способность развиваться в лабораторных средах при концентрации NaCl до 100 г/л, что ранее не отмечалось для этого рода.

Таким образом, исследованные озера в большинстве случаев характеризуются нестабильным водным режимом, обусловленным резко-континентальным климатом Южного Забайкалья. Воды большинства исследованных озер относились к хлоридно-натриевому и гидрокарбонатно-натриевому типам, к солоноватым водам и рассолам. Значения pH воды находились в щелочной области. В озерах было обнаружено 28 видов цианобактерий: наибольшее их количество зарегистрировано в низко-минерализованных озерах, наименьшее – в высокоминерализованных. Списки цианобактерий Забайкалья дополнены 10-ю ранее не обнаруженными видами. Анализ видового состава цианобактерий исследованных озер с помощью коэффициента флористической общности показал, что в зависимости от физико-химических условий, существующих в озерах, формируются разнотипные микробные сообщества, отличия между которыми выявляются на видовом и родовом уровнях.

Выделено шесть монокультур цианобактерий. Изученные организмы являлись умеренными алкалофилами, имеющими оптимум развития при щелочном pH, и способны развиваться при полном отсутствии NaCl в среде и до его концентрации 100 г/л. Культуры Суа 1, Суа 2 и Суа 10 отнесены к роду *Phormidium*. Суа 4 отнесена к виду *Pseudanabaena frigida*. Суа 5 и Суа 6 являлись представителями рода *Nodularia* и имели способность развиваться в лабораторных средах при концентрации NaCl до 100 г/л, что ранее не отмечалось для этого рода.

Работа выполнена в рамках темы Госзадания № госрегистрации AAAA-A17-117011810043-9 и гранта РФФИ №18-44-030028.

Литература

1. Vreeland R.H., Litchfield C.D., Martin E.L., Elliot E. Halomonas elongate, a new genus and species of extremely salttolerant bacteria // Int. J. Syst. Bacteriol. 1980. V. 30. P. 485–495.
2. Заварзин Г.А. Эпиконтинентальные содовые водоемы как предполагаемые реликтовые биотопы формирования наземной биоты // Микробиология. 1993. Т. 62. С. 789–800.
3. Андреюк Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В. Цианобактерии. Киев: Наукова думка, 1990. 200 с.
4. Локоть Л.И., Стрижова Т.А., Горлачева Е.П., Шамсутдинов В.Х., Чечель А.П., Тополь А.А., Итигилова М.Ц., Клишко О.К., Оглы З.П., Балущкина Е.В., Серебрякова М.С., Орлик Л.А., Афонин А.В. Содовые озера Забайкалья. Экология и продуктивность / Отв. ред. А.Ф. Алимов. Новосибирск: "Наука", Сиб. отд-ние, 1991. 216 с.
5. Брянская А.В. Влияние экологических условий на видовой разнообразие и функциональную активность цианобактерий водоемов Южного Забайкалья. Улан-Удэ: БГУ, 2002. 22 с.
6. Алекин О.А., Семенов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л: Гидрометеиздат, 1973. 269 с.
7. Komàrek J., Anagnostidis K. Cyanoprokariota 1. Teil: Chroococcales // Süßwasserflora von Mitteleuropa / Herausgegeben von Ettl H., Gärtner G., Heynig H., Mollenhauer D. Jena, Stuttgart, Lübeck, Ulm; G.Fischer, 1999. Bd. 19/1. 548 p.
8. Komàrek J., Anagnostidis K. Cyanoprokariota 2. Teil: Oscillatoriales // Süßwasserflora von Mitteleuropa / Herausgegeben von B. Büdel, G. Gärtner, L. Krienitz, M. Schagerl, 2007. Bd. 19/2. 759 p.
9. Малышев Л.И. Флористические спектры Советского Союза. История флоры и растительности Евразии. Л.: "Наука", 1972. С. 17-40.



PHOSPHORUS STARVATION AND LUXURY UPTAKE IN MICROALGAE REVISITED

Elizaveta Vinogradova, Alexei Solovchenko, Inna Khozin-Goldberg, Irina Selyakh, Larisa Semenova, Tatiana Ismagulova, Alexandr Lukyanov, Ilgar Mamedov, Ivan Zvyagin, Olga Gorelova, Olga Karpova, Svetlana Vasilieva, Peter Mojzes, Cor Dijkema, Margarita Vecherskaya, Ladislav Nedbal

Phosphorus (P) is central to storing and transfer of energy and information in living cell including that of microalgae. Microalgae mostly dwell in low-P environments, so they are naturally equipped to take up and store P whenever it becomes available through a complex phenomenon known as 'luxury P uptake.' Knowing its mechanisms is a key to understanding of nutrient-driven rearrangements in natural microbial communities, control of industrial algal cultivation, and sustainable usage of P by its recycling from wastewater into biofertilizers. Here, we report on recent insights in luxury P uptake and polyphosphate formation originating from physiological, ultrastructural, and transcriptomic evidence obtained for the model chlorophyte *Chlorella vulgaris* IPPAS C-1. Special attention is paid to differential effects of P starvation and subsequent re-feeding on growth, P uptake, photosynthesis, lipid and polyphosphate content. The cultures pre-starved of P showed a polyphasic kinetics of inorganic P uptake and polyphosphate formation. P starvation impacted profoundly photochemistry but exerted only a moderate effect on cell lipid composition. The rate of polyphosphate accumulation depended on the rates of cell division and P uptake resulting in a transient polyphosphate accumulation before the resumption of cell division. Electron microscopy studies revealed ordered organization of vacuolar deposits of polyphosphate indicative of possible involvement of an enzyme (complex) in their synthesis. A candidate gene encoding such an enzyme was revealed (a VTC-like protein) with the expression pattern corresponding to that of polyphosphate accumulation. Implications of the findings for efficient biocapture of phosphorus and generation of polyphosphate-enriched biomass suitable for conversion into biofertilizer are discussed.

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВОЙ СУЛЬФИДОГЕННОЙ БАКТЕРИИ ИЗ ПОДЗЕМНЫХ ГОРИЗОНТОВ ЗАПАДНО-СИБИРСКОГО АРТЕЗИАНСКОГО БАССЕЙНА

Франк Ю.А., Лукина А.П., Абрамова А.В., Глухова Л.Б., Карначук О.В.

Кафедра физиологии растений и биотехнологии,
Томский государственный университет, г. Томск

Наши знания о микроорганизмах подземной биосферы в большей части основаны на молекулярных данных. Количество метагеномных данных и композитных геномов некультивируемых видов превышает число культур. Ранее молекулярными методами в метагеноме глубинных подземных горизонтов, вскрываемых скважиной 1-Р в пос. Белый Яр Томской области, были обнаружены четыре организма, для которых известна способность к диссимиляционной сульфатредукции, включая представителей *Deltaproteobacteria*, *Nitrospira* и *Firmicutes*. В нашей лаборатории были культивированы и выделены чистые изоляты двух из этих организмов, включая, *Candidatus Desulforudis audaxviator* (*Firmicutes*) и *Thermodesulfovibrio* sp. N1 (*Nitrospira*). Целью настоящего исследования было культивирование второго представителя *Firmicutes* из воды скважины.

Пробы воды из скважины 1-Р были отобраны 3 июля 2018 г. В момент отбора проб температура воды составляла 44 °C, Eh=-262 мВ и pH=8.5. Использование классической среды Видделя-Бака недало результатов, поэтому были изменены состав основной среды путем добавления дрожжевого автолизата и увеличения концентрации магния. В результате были получены сульфидогенные накопительные культуры на среде с мальтозой. Микрокопирование показало, что культура была бинарной и состояла из двух различных морфотипов – спирохеты и спорообразующей палочки. Споровый организм был очищен путем прогрева с серией последующих разведений. После очистки культуру выращивали на пирувате в качестве донора электронов. Анализ



фрагмента гена 16S рПНК показал, что спорообразующий сульфидоген, обозначенный штамм DN, принадлежал к семейству *Peptococcaceae*. Ближайшим родственником штамма DN был *Desulfallas alcoholivorax* со сходством последовательностей гена 16S рПНК 93%. Штамм может являться представителем нового рода, с учетом порогового значения сходства гена 16S рПНК. Изучение тонких срезов клеток штамма DN под электронным микроскопом выявило сложную внутреннюю организацию клеток. С учетом полученных нами ранее культур можно заключить, что целевое культивирование позволяет получить в культуре большое количество изолятов, известных ранее только по молекулярным подписям.

Отбор проб и выделение штамма поддержано грантом РФФИ 18-04-00181, изучение тонкого строения штамма DN грантом РНФ 18-14-00130.

ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND CLONALITY OF *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* ISOLATES IN RUSSIA

Irina Tsvetkova ¹, Sergey Belanov ², Vladimir Gostev ^{1,3}, Ekaterina Nikitina ¹, Olga Kalinogorskaya ¹, Marina Volkova ¹, Irina Lazareva ¹, Vladimir Ageevets ¹, Sergey Sidorenko ^{1,3}

¹Federal State-Financed Institution Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases under the Federal Medical Biological Agency, Saint Petersburg, Russian Federation

²University of Helsinki, Institute of Biotechnology, Helsinki, Finland

³North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation

Introduction: Monitoring of the dynamics of pneumococcal population is necessary to evaluate the effectiveness of vaccination. The population response to selective vaccination pressure can be both increasing the rate of pneumococcal infection diseases with replacement serotypes and appearance of antibiotic resistance in non-vaccine strains.

Objective: To clarify the intraspecies phylogenetic relationship between *S. pneumoniae* isolates from Russia and widespread epidemically significant genetic lines of pneumococci.

Methods:

This study included *S. pneumoniae* strains, registered in the PubMLST database: 516 strains from different regions of Russia (collected from 1980 to 2017); 437 referent strains (belonging to worldwide distributed clones). Single nucleotide polymorphisms (SNPs) were extracted from concatenates of sequences of MLST alleles and used to generate a phylogeny using RaxML. Same SNPs alignment was analysed with RhierBAPS for analysis the associations of the major genetic clusters and the substructure within them.

Raw reads, available for 458 pneumococci strains, were downloaded from ENA Archive and assembled *de novo* using SPAdes. Roary was used to construct a pan-genome from the annotated assemblies.

Results: Totally, the 1058 pneumococci strains were analyzed in association with metadata. According to the phylogenetic trees, based on the concatenates of sequences of MLST alleles and constructed with RaxML, pneumococci were divided into two Global Groups. As the result of RhierBAPS clustering, 13 major sequence clusters (SCs) were defined within our dataset. Two Global Groups were composed by the distinctive SCs and representatives of the three main SCs were distributed within the top level nodes of the trees. The multidrug-resistant isolates were identified in both groups. Beta-lactam resistance exhibited a tendency to be clonal. Pan-genome analysis allowed to estimate the genomic diversity for two Global Groups of pneumococci.

Conclusion: Understanding the population genetics of pneumococci will allow detection the changes in the prevalence of circulating genotypes. Until recently, a global assessment of pneumococcus genotypes had not been conducted in Russia. We can consider the results of this analysis as a picture of the population «before the start of vaccination».



ПОДБОР КОНСОРЦИУМОВ ТЕХНОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОФИЛЬТРАХ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ КОНДЕНСАТА АТМОСФЕРНОЙ ВЛАГИ НА ПИЛОТИРУЕМЫХ КОСМИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСАХ

Алехова Т.А.¹, Загустина Н.А.², Новожилова Т.Ю.¹, Жбанов Ю.К.³, Жуков В.Г.²

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,
Москва, 119234 Ленинские горы, 1, altanj@gmail.com

² Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук,
Москва 119071 Ленинский пр.. 33, стр. 2, zagust@inbi.ras.ru

³ Институт проблем механики им. А.Ю. Ишлинского РАН,
Москва 119526, пр-т Вернадского, д. 101, корп. 1, ipm@ipmnet.ru

Подготовка к долгосрочным пилотируемым космическим экспедициям требует разработки новых технологий для обеспечения жизнедеятельности на борту. Одна из актуальных задач обеспечения безопасности – очистка конденсата атмосферной влаги (КАВ) в пилотируемом космическом комплексе (ПКК).

В наземных условиях для очистки воды от органических микропримесей (ОМ) широко применяются биофильтрация.

Цель исследования – анализ возможности применения биофильтров для удаления ОМ из КАВ ПКК.

Проведена длительная многоступенчатая селекция сообщества микроорганизмов на носителе, способного расти на среде, содержащей метанол, бутанол, пропанол, этанол, ацетон, уксусную кислоту и аммоний, в концентрациях соответствующих их содержанию в КАВ. Основными этапами отбора эффективного сообщества была иммобилизация клеток в реакторе на пенополиуретане и запуск лабораторного биореактора (биофильтра). Проведены модельные испытания с различными режимами работы биофильтра и оценкой степени деградации ряда ОМ КАВ.

Из сформированного на биофилтре сообщества были выделены штаммы, принадлежащие к родам *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*.

Подобраны условия поддержания отобранных микроорганизмов-деструкторов и их сообществ в активном состоянии и условия их активизации после консервации. Проработаны варианты конструктивного и технологического исполнения биофильтра для очистки КАВ от ОМ с учетом фактора гравитации и его интеграции в штатную систему регенерации воды ПКК.

Выполненные исследования подтверждают возможность создания дополнительных средств очистки КАВ от ОМ с использованием биофильтров, способных функционировать в условиях микрогравитации, с продлением ресурса блоков очистки конденсата.



