



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

II ВСЕРОССИЙСКОЙ ШКОЛЫ-КОНФЕРЕНЦИИ

**«СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
МИКРООРГАНИЗМОВ»**



brc.arriam.ru

**Санкт-Петербург
26-27 июня 2023 г.**

УДК 579.25
ББК 28.440.4я43
С23

С23 Сборник тезисов II Всероссийской школы-конференции «СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ». — Москва: Издательство Перо, 2023. — 1,8 Мб. [Электронное издание].

ISBN 978-5-00218-475-0

II Всероссийская школа-конференция «Сохранение и преумножение генетических ресурсов микроорганизмов» прошла 26-27 июня 2023 г. в Санкт-Петербурге. Целью школы-конференции являлось освещение передовых направлений фундаментальных и прикладных исследований микроорганизмов с использованием современных методов генетики, микробиологии, молекулярной биологии и биотехнологии; поддержания и развития биоресурсных коллекций. Участники школы-конференции ознакомились с последними достижениями в области накопления, хранения и систематизации микроорганизмов и информации о них, результатами анализа биоразнообразия микроорганизмов различных природных экосистем, новыми методами выявления и изучения хозяйственно-ценных штаммов микроорганизмов, а также с новыми методами диагностики и изучения патогенных микроорганизмов. Школа-конференция способствовала увеличению интереса молодежи к изучению биоресурсных коллекций микроорганизмов, обогащению знаний о методах и подходах к их исследованию, а также укреплению связей и сотрудничества в научной среде. Мероприятие проводилось при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках работ по проекту «Мобилизация генетических ресурсов микроорганизмов на базе Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) при ФГБНУ ВНИИСХМ с использованием сетевого принципа организации» по соглашению от 28.09.2021 г. № 075-15-2021-1055.

УДК 579.25
ББК 28.440.4я43

ISBN 978-5-00218-475-0

© Авторы, 2023

Организаторы



**Всероссийский НИИ
сельскохозяйственной
микробиологии
(ФГБНУ ВНИИСХМ)**

arriam.ru

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



**Санкт-Петербургский
государственный университет
(СПбГУ)**

spbu.ru

Партнер



**ООО Центр
Межрегионального
Инновационного Развития
“ИННО-МИР”**

inno-mir.ru

Информационный партнер



Telegram канал Sci Career

Самые интересные и актуальные
вакансии из мира науки и
образования.

t.me/sci_career

ООО «Компания Хеликон» — один из ведущих российских поставщиков лабораторного оборудования, реагентов и расходных материалов с 1997 года. Компания оказывает комплекс услуг и сопровождает Клиентов на всех этапах — помогает в проектировании лабораторий, подбирает и доставляет необходимую продукцию, проводит пуско-наладку оборудования, обучает персонал на местах, обеспечивает квалифицированное сервисное обслуживание. Каталог товаров включает 20 000+ наименований продукции более чем 60 производителей. Развитая логистическая и складская сеть позволяет доставлять товар в кратчайшие сроки.

Направления деятельности:

- Молекулярная и клеточная биология
- Клиническая диагностика
- Ветеринария
- Биоиндустрия
- Пищевая безопасность
- Криминалистика
- Агрогеномика

Для своих ключевых клиентов Компания предоставляет возможность тестирования продукции до принятия решения о покупке.

«Компания Хеликон» также имеет собственную производственную базу и выпускает лабораторное оборудование, расходные материалы и мебель под торговой маркой **Helicon**.

Региональные представительства Компании находятся в Санкт-Петербурге, Новосибирске, Казани, Ростове-на-Дону, Владивостоке и Екатеринбурге.

Адрес: 121374, Москва, Кутузовский проспект, д. 88

Телефон: 8 (800) 770-71-21

E-mail: mail@helicon.ru

Сайт: helicon.ru

ООО «Бионоватик» — отечественная компания, которая занимается разработкой, производством и внедрением биологических препаратов и биотехнологий для сельского хозяйства.

Научный центр с уникальными разработками

- Научно-исследовательская лаборатория в Казани: первичный скрининг штаммов с применением современных молекулярно-генетических методов анализа; изучение ключевых свойств отобранных штаммов на технологическую, экологическую, токсикологическую безопасность и целевую эффективность; разработка высокотехнологичных товарных форм, включая технологию культивирования, блендинга и асептического розлива; авторский надзор за разработанными продуктовыми решениями от пробирки до поля
- Научно-исследовательская лаборатория в Краснодарском крае: деляночные эксперименты вновь разработанных и коммерческих продуктов; химико-аналитический центр почв, выходного анализа отгружаемых продуктов; собственный инсектарий основных фитофагов, позволяющий постоянно повышать биологическую эффективность продуктовой линейки инсектицидов
- Тесное сотрудничество с ведущими профильными НИИ и ВУЗами, опора на передовые мировые практики

Масштабное производство на уровне мировых стандартов

- Высококонцентрированные биопрепараты, содержащие до 10 млрд. живых микроорганизмов в 1 мл, с сохранением заявленного титра до поля
- Шесть новейших разгонных линии новых биореакторов суммарной мощностью более 60м³ и производительностью до 6 000 тонн в год
- Уникальный, не имеющий аналогов в мире, участок асептического/стерильного розлива в канистры
- Участок концентрирования и сушки, включающий новейшие технологии — лиофильной сушки, ультрафильтрации и сепарирования

«Холодная» логистика

- Хранение готовой продукции в складах с контролируемыми параметрами микроклимата
- Перевозка готовой продукции рефрижераторным и изотермическим транспортом
- Сеть холодных складов по территории РФ

Агросопровождение

- Внедрение продуктов на основе данных по составу почв, истории полей, оценки фитосанитарного состояния
- Контроль за развитием сельхозкультур, проведение своевременной диагностики заболеваний растений и численности вредителей
- Консультация на всех этапах работы: от подготовки почв до уборки урожая
- Максимальная экономическая отдача на вложения заказчиков, комбинация химических и биологических средства питания и защиты растений

Телефон: 8 (800) 500-26-45 или +7 (843) 212-19-19

E-mail: info@bionovatic.com

Сайт: bionovatic.ru



«**Early Birds**» — проект компании «Экселлена», сфокусированный на фасилитации R&D-процессов в ранних научных разработках в областях биологии и медицины.

В мире со всё возрастающей формализацией, специалистам, занятым важной научной работой, необходима профессиональная поддержка в областях соприкосновения их исследований и открытий с общественными и государственными институтами. Проект берёт на себя львиную долю всех формальностей и рисков, сопровождающих открытие на его пути к людям, обеспечивая при этом интересы разработчиков и учреждений, в стенах которых ведется разработка.

Ключевые направления деятельности проекта:

1. Финансирование дальнейших научных исследований;
2. Помощь в оформлении и защите интеллектуальной собственности;
3. Оптимизация производства продукта, отработка технологии в соответствии с регуляторными требованиями;
4. Формализация процесса доклинической разработки;
5. Проведение ранних стадий клинических исследований;
6. Маркетинг и решение коммуникационных задач;
7. Привлечение инвесторов.

Типичные результаты работы проекта «**Early Birds**»: доведение продукта до стадии КИ с уже значительной доказательной базой и процессом производства, готовым к масштабированию в промышленное производство.

Сайт: accellena.com

Контакты для связи: Кирилл Онохин,
руководитель научного отдела компании «Экселлена»

E-mail: k.onokhin@accellena.com

Телефон: +7 (812) 337-58-66



ВСЕРОССИЙСКАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ
**СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
МИКРООРГАНИЗМОВ**

2023

Организационный комитет

Председатель

Кирилл Сергеевич Антонец,

к.б.н., в.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ, в.н.с. СПбГУ

Секретарь организационного комитета

Юлия Александровна Савина,

м.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ

Члены комитета

- **Виктор Евгеньевич Цыганов,**
д.б.н., директор ФГБНУ ВНИИСХМ
- **Михаил Владимирович Белоусов,**
к.б.н., с.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- **Ирина Анатольевна Колесник,**
ведущий референт ФГБНУ ВНИИСХМ
- **Мария Николаевна Романенко,**
м.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- **Аркадий Анатольевич Рябов,**
куратор от СПбГУ



ВСЕРОССИЙСКАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ

СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

2023

Программный комитет

Председатель

Игорь Анатольевич Тихонович,
академик РАН, научный руководитель ФГБНУ ВНИИСХМ,
декан биологического факультета СПбГУ

Члены комитета

- **Антон Александрович Нижников,**
профессор РАН, профессор СПбГУ, г.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ,
- **Екатерина Валерьевна Гризанова,**
к.б.н., в.н.с. НГАУ, с.н.с. ТГУ
- **Вера Игоревна Сафронова,**
к.б.н., в.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ
- **Станислав Сергеевич Терехов,**
к.х.н., с.н.с. ИБХ РАН
- **Владимир Кузьмич Чеботарь,**
к.б.н., в.н.с. ФГБНУ ВНИИСХМ

Содержание

Влияние пестицидов и удобрений на микробное сообщество почв под посевами сои (*Glycine max*) 18

Ажогина Т.Н., Хмелевцова Л.Е., Карчава Ш.К., Климова М.В., Сазыкин И.С.

Сравнительный анализ состава и эффективности микросимбионтов козлятника восточного и клевера гибридного на разных стадиях их вегетации 19

Акимова Е.С., Коряков И.С., Владимирова А.А., Баймиев Ан.Х.

Различия в регуляции чекпойнта при низких и высоких дозах УФ-света на модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* 20

Алексеева Е.А., Скобелева И.И., Евстюхина Т.А., Бахланова И.В., Федоров Д.В., Пешехонов В.Т., Королев В.Г.

Новый бактериолитический фермент, продуцируемый штаммом *Staphylococcus pseudintermedius*, выделенным из слюны енотовидной собаки 21

Баранова М.Н., Корниенко М.А., Бабенко В.В., Соболева Е.А., Пилипенко Е.А., Ильина Е.Н., Смирнов И.В., Терехов С.С.

Комплексное изучение *Bacillus thuringiensis* spp. *aizawai* на картофеле 22

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

Использование генетических коллекций для изучения структуры амилоидных агрегатов *in vivo* 23

Бондарев С.А.

Серотипирование коллекционных штаммов как основа изучения разнообразия ризосферных бактерий рода *Azospirillum* 24

Бурьгин Г.Л.

Секвенирование и анализ генома бактерии *Formosa* sp. KMM 3963, выделенной из бурой водоросли *Saccharina japonica* 25

Быстрицкая Е.П., Недашковская О.И., Отставных Н.Ю., Исаева М.П.

Сходство и различие геномов *Lactococcus lactis*, размещенных в базе данных NCBI RefSeq 26

Введенский А.В.

Антимикробные соединения в регуляции численности клубеньковых бактерий 28

Владимирова А.А., Акимова Е.С., Матниязов Р.Т., Лавина А.М., Филяева К.Ю., Баймиев Ал.Х.

Анализ сайт-специфической интеграции фаговой ДНК, на примере штаммов *Sinorhizobium meliloti*, из центра итрагрессивной гибридизации люцерны 29

Владимирова М.Е., Мунтян В.С., Румянцева М.Л.

Поддержание и пополнение биокolleкции штаммов спорыньи *Claviceps purpurea* – основа для метаболической инженерии эргоалкалоидов 30

Волнин А.А., Цыбулько Н.С., Бобылева Р.И.

Бактериальная смесь, разработанная для уплотнения почв путем биоминерализации 31

Головкина Д.А., Журишкина Е.В., Кульминская А.А.

Как резистентная популяция насекомых помогает улучшать бактерии *Bacillus thuringiensis* 32

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

Современная информационная система — необходимое условие эффективной работы специалистов биобанка 34

Гузев К.В., Куриленко В.В., Быстрицкая Е.П., Отставных Н.Ю., Балдаев С.Н., Чаусова Е.В., Ильин И.Е., Лысюк П.А., Михайлов В.В., Исаева М.П.

Оценка адаптивного потенциала оксифильных микроорганизмов озера Байкал 35

Дмитриева М.Е., Шелковникова В.Н., Бельшенко А.Ю., Тельнова Т.Ю., Власова А.А., Аксёнов-Грибанов Д.В.

Энтомопатогенные бактерии и грибы - источник новых решений для защиты растений и биотехнологий 36

Дубовский И.М.

От цианобактерий до зеленых водорослей: роль сигнальных белков PII в контроле метаболизма 37

Ермилова Е.В.

Динамика таксономического состава и разнообразия микробиома в хроносерию разновозрастных агрогенных и постагрогенных почв криолитозоны (на примере Надымского р-на ЯНАО) 37

Жемчуева Д.А., Низамутдинов Т.И., Печкин А.С., Зверев А.О., Андронов Е.Е., Абакумов Е.В.

Подходы к очистке культур коллекционных штаммов микроводорослей 39

Зайцева А.А., Бахарева Д.А., Васильева С.Г., Зайцев П.А., Лобакова Е.С.

Штамм *Bacillus amiloliquefaciens* P20 – перспективы использования для борьбы с болезнями картофеля 40

Заплаткин А.Н., Чеботарь В.К., Келейникова О.В., Баганова М.Е., Балашев Н.А., Лазарев А.М., Хютти А.В., Быстрицкий А.А.

Использование тест-систем для детекции фитопатогенных фузариевых грибов в почвах агроценозов 41

Иванова Е.А., Стахеев А.А., Тхакахова А.К., Ксенофонтова Н.А., Семенов М.В.

Характеристика эндолитного штамма *Nocardia mangyaensis* H1 42

Ивойлова Т.М., Валеева Л.Р., Лайков А.В., Шарипова М.Р., Хиляс И.В.

Пластичность резистома природных биотопов человека 44

Ильина Е.Н., Старикова Е.В.

Анализ вторичных метаболитов, синтезированных бактериальными штаммами при росте на лигнинсодержащих субстратах 44

Имидоева Н.А., Малыгина Е.В., Бельшенко А.Ю., Аксёнов-Грибанов Д.В.

Генетические технологии в исследовании генетического и метаболического потенциала морских бактерий и их сообществ 46

Исаева М.П.

Оценка эффективности инокуляции проростков люцерны хмелевидной грибами арбускулярной микоризы и ассоциативными фосфатмобилизующими бактериями по показателям продуктивности растения 46

Калинина Т.В., Железняков С.В., Попова Т.А., Лактионов Ю.В., Якоби Л.М.

Получение направленной делеции с помощью системы CRISPR/Cas9 в гене *SACOL1927* у *Staphylococcus aureus* и ее фенотипический анализ 48

Кандина Д.А., Сопова Ю.В., Велижанина М.Е., Гостев В.В., Сидоренко С.В.

Новые сульфидогены из кишечника животных и человека участвуют в связывании железа и меди в бионедоступные сульфиды 49

Карначук О.В., Иккерт О.П., Панова И.А., Русанов И.И., Равин Н.В.

Первые генетические данные и анализ нового для морей России вида диатомовых водорослей рода *Thalassiosira* (Bacillariophyceae, Thalassiosirales) 51

Качур Д.И., Шульгина М.А., Туранов С.В., Шевченко О.Г.

Особенности симбиотического взаимодействия между *Pisum sativum* и *Rhizobium laguerreae* – «новым» симбионтом гороха 52

Киричек Е.А., Цыганова А.В., Цыганов В.Е.

Мицелиальные грибы, ассоциированные с дальневосточным трепангом *Apostichopus japonicus* (Holothurioidea, Echinodermata) 53

Киричук Н.Н., Худякова Ю.В., Чаусова В.Е., Павлюк А.Е., Куриленко В.В., Пивкин М.В.

Геномный анализ штаммов-эндофитов рода *Bacillus*: поиск генов, участвующих в осуществлении антифунгальной активности и взаимодействии с растением 54

Коренская А., Ben C., Gentzbittel L., Лашин С., Клименко А.

Изучение циркуляции патогенов среди диких парнокопытных животных Московской области 56

Красникова М.С., Яценчук С.П., Долинская К.Г., Пчельников А.В.

Морская микробиология: история и современное состояние 57

Куриленко В.В., Романенко Л.А., Недашковская О.И., Михайлов В.В.

Сравнительный анализ разнообразия ризосферного микробиома пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и ее близкородственного вида пырея ползучего (*Elymus repens*) 58

Курынцева П.А., Галиева Г.Ш., Селивановская С.Ю.

Влияние экстрактов из бурых водорослей и лишайника на микробиом SCOBY и свойства комбучи 59

Лапина И.М., Головкина Д.А., Журишкина Е.В., Комиссаров А.Е., Ермилов Ф.К., Барсебян А.М., Кульминская А.А.

Характеристика геномов облигатных анаэробов рода *Alistipes* в микробиоте кишечника пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и здоровых добровольцев 60

Маркелова М.И., Синягина М.Н., Исмаилова Р.К., Данилова Н.А., Одинцова А.Х., Абдулхаков С.Р., Абдулхаков Р.А., Григорьева Т.В.

Изучение пангенома *Salmonella enterica* для расшифровки молекулярных механизмов патогенности и специфичности выбора бактериями организма-хозяина 61

Меркушова А.В., Шиков А.Е., Нижников А.А., Антонец К.С.

Изменение видового состава кишечного микробиома несушек перепелов при применении пробиотического препарата «Яросил» 63

Мостофина А.В.

Генетический анализ штаммов *Sinorhizobium meliloti*, контрастно различившихся по солеустойчивости 64

Мунтян В.С., Румянцева М.Л.

Резистентность фитопатогенных грибов *Microdochium nivale* к фунгицидным препаратам 65

Мурзагулова Г.Ш., Гоголева О.А., Мещеров А.Р., Горшков В.Ю.

Изучение арбускулярных микоризных грибов, ассоциированных с сорными растениями семейства *Asteraceae* 66

Нестерова Е.А., Малыгин Д.М.

Порины энтеробактерий формируют амилоиды, секретируемые в везикулы наружной мембраны 67

Нижников А.А., Белоусов М.В., Сулацкая А.И., Косолапова А.О., Сулацкий М.И., Антонец К.С.

Моделирование трансдукции T4-подобными бактериофагами плазмидной ДНК в бактерию-реципиент *E.coli* в ЖКТ мыши 68

Никулина А.Н., Павлов В.М., Федотова А.Ю., Никулин Н.А., Дъяченко И.А., Мурашев А.Н., Зимин А.А.

Двенадцать новых видов актинобактерий рода *Rathayibacter* из свежесобранных и гербарных образцов растений 70

Оспенников Ю.В., Демидов А.В., Дорофеева Л.В., Стародумова И.П., Тарлачков С.В., Присяжная Н.В., Субботин С.А., Евтушенко Л.И.

Роль низкомолекулярных фосфонатов пектобактерий в растительно-микробных взаимодействиях 71

Парфирова О.И., Петрова О.Е., Микшина П.В., Сыромятникова Е.Д., Смолобочкин А.В., Горшков В.Ю.

Анализ CRISPR-Cas систем у природных изолятов *Sinorhizobium meliloti*, выделенных в среднеазиатском генцентре культурных растений 73

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

Платформа для получения аналогов природных антимикробных пептидов с использованием метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris* 74

Пипия С.О., Мирзоева Н.З., Баранова М.Н., Елисеев И.Е., Мокрушина Ю.А., Шамова О.В., Габибов А.Г., Смирнов И.В., Терехов С.С.

Изучение хозяйственно-ценных свойств новых изолятов группы *Bacillus* 75

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

Изменения в составе микробного сообщества очистных сооружений предприятия органического синтеза при формировании углеводородных шламов 76

Романова В.А., Булыгина Е.А., Маркелова М.И., Григорьева Т.В., Лайков А.В.

Проблема терапии инфекций, вызываемых *Mycobacterium abscessus* 77

Салина Е.Г.

Исследование микробиомов кишечника стерляди *Acipenser ruthenus*, выращенной в условиях аквакультуры 79

Скворцова Е.Г., Филинская О.В., Микряков Д.В.

Изучение влияния пробиотиков на микробиом техасского белого перепела с помощью секвенирования нового поколения 80

Смагина К.А., Скворцова Е.Г., Мостофина А.В.

Применение микрофлюидных технологий для решения задач микробиологии и биомедицины 81

Смирнов И.В.

Молочнокислые бактерии из редких сельскохозяйственных и диких животных перспективные для создания новых пробиотиков 82

Соколянская Л.О., Лукина А.П., Авакян М.Р., Глухова Л.Б., Ракитин А.В., Карначук О.В.

Альгологические коллекции в России: проблемы, современное состояние и перспективы развития 83

Темралеева А.Д., Синетова М.А.

Как белки Svx «помогают» фитопатогенным пектобактериям вызывать заболевания у растений-хозяев 84

Тендюк Н.В., Коннова Т.А., Петрова О.Е., Осипова Е.В., Макшакова О.Н., Мухаметзянов Т.А., Дьяконова А.А., Горшков В.Ю.

Направленная эволюция биоразнообразия для поиска антимикробной активности 86

Терехов С.С., Пипия С.О., Мирзоева Н.З., Баранова М.Н., Мокрушина Ю.А., Смирнов И.В., Габиров А.Г.

Механизм синергетического действия спор и кристаллического эндотоксина бактерий *Bacillus thuringiensis* при заражении колорадского жука 87

Терещенко Д.С., Гризанова Е.В., Крыцына Т. И., Дубовский И.М.

Амилоидные свойства белка Dps *Salmonella enteritidis* var. Issatschenko 88

Фаюд Х., Белоусов М.В., Антонец К.С., Нижников А.А.

Изучение влияния условий индукции на продуктивность рекомбинантных штаммов *Escherichia coli* 89

Хасаншина З.Р., Корнаков И.А., Буслаева Е.А., Латыпов В.Ф.

Влияние агрохимических обработок на бактериальное сообщество почвы под посевами подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) 90

Хмелевцова Л.Е., Ажогина Т.Н., Хаммами М.И., Полиенко Е.А., Сазыкин И.С.

Характеристика геномов *Ligilactobacillus salivarius*, выделенных от пациентов с болезнью Крона 91

Хуснутдинова Д.Р., Маркелова М.И., Синягина М.Н., Сенина А.М., Булыгина Е.А., Абдулхаков С.Р., Григорьева Т.В.

Эндофиты галофитных растений как кандидаты для создания антистрессовых микробиологических препаратов 93

Чеботарь В.К., Чижевская Е.П., Келейникова О.В., Баганова М.Е., Заплаткин А.Н., Костицын Р.Д., Хонина О.В., Лапенко Н.Г.

Петергофская генетическая коллекция штаммов зеленых водорослей (ПГК) в Санкт-Петербургском университете 94

Чекунова Е.М.

Чувствительность микроорганизмов из различных систематических групп к листовым экстрактам ореха грецкого (*J. regia* L.) 95

Шабля А.С., Кондрашова М.М., Жаркова Е.К., Свиридова Л.А., Смагина П.М., Устинова М.А., Дренова Н.В., Зубков А.В.

Антимикробные пептиды системы врожденного иммунитета: структура, функции, механизмы действия на бактериальные клетки, перспективы применения в медицине 96

Шамова О.В.

Влияние ростстимулирующих ризобактерий на корневую экссудацию растений ячменя в условиях кадмиевого и фитопатогенного стрессов 96

Шапошников А.И., Вишневская Н.А., Азарова Т.С., Шахназарова В.Ю., Бородин Е.В., Лебединский М.И., Юзихин О.С., Струнникова О.К., Белимов А.А.

Обмен доменами как механизм формирования разнообразия и специфичности токсинов *Cry* 98

Шиков А.Е., Нижников А.А., Антонец К.С.

Скрининг антибактериальной активности вторичных метаболитов дрожжей в жидкой среде: анализ биоразнообразия для поиска новых антибиотиков 99

Шуленина О.В., Яровой Б.Ф., Полесскова Е.В., Коневега А.Л.

Изучение метагенома спермы быков 100

Яцентюк С.П., Гордеева В.Д., Гнездилова Л.А.

Влияние пестицидов и удобрений на микробное сообщество почв под посевами сои (*Glycine max*)

Ажогина Т.Н.*, Хмелевцова Л.Е., Карчава Ш.К., Климова М.В., Сазыкин И.С.

ФГАОУ ВО "Южный федеральный университет"

Почва играет важную роль в функционировании разнообразных экосистем, в том числе агроэкосистем. Методы ведения сельского хозяйства, которые в настоящее время широко используются в мире, могут снижать качество почв в агроэкосистемах и, следовательно, продуктивность растений.

Полевой эксперимент был проведен на базе ФГБНУ "Федеральный Ростовский аграрный научный центр" (пос. Рассвет, Ростовская область) в 2022 году. На экспериментальном участке выращивали сою (*Glycine max*) сорта Казачка в 4-х вариантах обработок: контроль (без удобрений и пестицидов), только удобрения без пестицидов, только пестициды без удобрений, совместное применение удобрений и пестицидов.

Образцы почвы под посевами сои отбирались дважды – по вегетации до внесения средств химической защиты и перед уборкой сои (в связи с коротким вегетационным периодом растения).

Анализ последовательностей генов 16S рНК осуществляли на платформе Illumina MiSeq (в режиме 2x300) согласно протоколу производителя. После качественной фильтрации, удаления химер и этапов разрежения последовательности были сгруппированы в операционные таксономические единицы (OTU) с порогом сходства последовательностей 97%. Использовалась последняя версия базы данных GreenGenes 2.

Во всех исследованных почвах доминировали филумы Actinobacteriota (38,6 – 44,6%), Proteobacteria (12,5 – 15,9%), Planctomycetota (9,9 – 15,6%), Chloroflexota (5,9 – 7,8%). Доли филумов Actinobacteriota, Planctomycetota и Chloroflexota снизились в контрольной почве (на 3,9; 1,1 и 0,3%, соответственно), только с удобрениями (на 1,4; 1,8 и 0,8%), совместным внесением удобрений и пестицидов (на 2,8; 0,3 и 0,4%) и возросли при воздействии только пестицидов (на 1,9; 0,7 и 0,7%). Доля филума Proteobacteria увеличилась в почвах участков контроля и внесения только удобрений (на 2,8 и 0,27%, соответственно) и снизилась при внесении только пестицидов и сочетанном внесении пестицидов и удобрений (на 1,1 и 0,5%, соответственно).

Таким образом, внесение удобрений и пестицидов влияет на микробное сообщество почв агроэкосистем.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-10048, <https://rscf.ru/project/21-76-10048/> в Южном федеральном университете.

Сравнительный анализ состава и эффективности микросимбионтов козлятника восточного и клевера гибридного на разных стадиях их вегетации

Акимова Е.С. , Коряков И.С., Владимирова А.А., Баймиев Ан.Х.*

Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

Обязательным условием при формировании симбиоза между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями является наличие в почве специфичных штаммов, среди которых растению нужно выбрать наиболее оптимальные для себя варианты микросимбионтов. От сделанного выбора в дальнейшем будет зависеть продуктивность бобового растения, так как в его ризосфере находится большое разнообразие штаммов микроорганизмов, отличающихся по эффективности симбиотической азотфиксации. По литературным данным, одной из причин формирования полиморфизма ризобий является пластичность их геномов. Кроме того, на состав бактерий, формирующих клубеньки на корнях бобовых, также оказывает влияние климатические и эдафические факторы, а также стадии вегетации растения. В настоящей работе был проведен сравнительный анализ изменчивости и азотфиксирующей активности штаммов ризобий, выделенных из клубеньков многолетних дикорастущих бобовых растений, произрастающих на территории Южного Урала: козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam) и клевера гибридного (*Trifolium hybridum* L.), на разных этапах их развития. Установлено, что при изучении генетического разнообразия клубеньковых бактерий исследованных бобовых растений на разных стадиях их вегетации прослеживается определенная закономерность. Так на начальном этапе развития в клубеньках обоих растений выявляются наиболее генетически разнородные микроорганизмы с разной азотфиксирующей активностью, среди которых много и высокоэффективных штаммов. К середине вегетации, когда потребность в азоте становится меньше, уровни полиморфизма и азотфиксации бактерий снижаются. Ближе к осени гетерогенность исследуемых микросимбионтов варьирует в зависимости от вида растения. Вероятно, это объясняется тем, что в период активного роста растению нужно максимально быстро найти подходящих партнеров для обеспечения себя азотом, а высокое разнообразие бактерий в почве дает ему больше возможности для выбора оптимальных вариантов. Когда потребность в азоте снижается, растение начинает «избавляться» от неэффективных клубеньков, оставляя варианты с оптимальным соотношением N/C. В конце же развития начинают формироваться клубеньки, основной задачей которых, вероятно, является не фиксация азота, а увеличение различных вариантов бактерий в ризосфере, имеющих оптимальный для данного растения набор симбиотических генов, которые в начале следующего сезона могут стать донорами при образовании новых штаммов. Таким образом, мы предполагаем, что благодаря пластичности генома клубеньковых бактерий бобовое растение может регулировать свою азотфиксирующую систему в зависимости от условий произрастания.

Данное исследование было выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 22-24-00207.

Различия в регуляции чекпойнта при низких и высоких дозах УФ-света на модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Алексеева Е.А.^{*1,2}, Скобелева И.И.¹, Евстюхина Т.А.^{1,2}, Бахланова И.В.¹, Федоров Д.В.¹, Пешехонов В.Т.^{1,2}, Королев В.Г.^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

² Курчатовский геномный центр – ПИЯФ, Гатчина, Россия

Работа систем репарации ДНК может отличаться в зависимости от дозы мутагена. Известно, что системы репарации запускаются, после активации специализированного ответа на повреждения ДНК, называемого «чекпойнт». Данный процесс активируется киназами Mec1 и Rad53, от активности которых зависит не только работа систем репарации, но и уровень дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ) в клетке. «Чекпойнт» подразделяется на два пути глобальный и локальный. Глобальный чекпойнт запускается при большом количестве однонитевой ДНК, при этом про локальный чекпойнт известно мало. Он запускается при спонтанных повреждениях ДНК и в ответ на низкие дозы повреждающих ДНК факторов.

Ранее было отмечено, что мутантные штаммы *him1Δ rad2Δ*, *hsm3Δ rad2Δ* с нарушенной нуклеотид эксцизионной репарацией проявляют синергизм с мутацией. В *rad2Δ* мутантах не активируется глобальный чекпойнт из-за низкого уровня используемых доз УФ, но функционирует локальный чекпойнт. В предварительных экспериментах мы показали, что мутантные штаммы *him1Δ*, *hsm3Δ*, а также *rpd3Δ* и *sin3Δ* могут быть использованы для изучения воздействия малых доз на клетки дрожжей и, в частности, локального чекпойнта. Мы измерили у них частоту возникновения индуцированных мутаций при высоких и низких дозах УФ-света, а также измерили экспрессию гена *RNR3*, кодирующего субъединицу рибонуклеотидредуктазного комплекса RNR, до и после воздействия УФ-лучей.

Сравнение частот возникновения индуцированных мутаций у данных мутантных штаммов при воздействии высоких и низких доз УФ-света показало, что оба типа чекпойнта регулируются киназой Rad53. Однако регуляция активности самой киназы при этих дозах регулируется различно.

Работа поддержана грантом РФФИ 23-24-00119.

Новый бактериолитический фермент, продуцируемый штаммом *Staphylococcus pseudintermedius*, выделенным из слюны енотовидной собаки

Баранова М.Н.^{1*}, Корниенко М.А.², Бабенко В.В.², Соболева Е.А.¹, Пилипенко Е.А.¹,
Ильина Е.Н.², Смирнов И.В.^{1,4}, Терехов С.С.^{1,3}

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

2 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства»

3 Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

4 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

*e-mail: baranova@ibch.ru

Развитие устойчивости к антибиотикам – серьёзная проблема общественного здравоохранения во всём мире. Помимо поиска новых низкомолекулярных препаратов, для решения проблемы резистентности рассматриваются альтернативные подходы, включающие применение пробиотических штаммов, бактериофагов, а также противомикробных пептидов и белков. Среди белков в качестве эффективных антибактериальных агентов выделяют гидролазы пептидогликана, способные приводить к лизису клеток патогена путём разрушения стенки. С применением платформы высокопроизводительного скрининга из микробиома ротовой полости енотовидной собаки (*Nyctereutes procyonoides*) был выделен штамм *Staphylococcus pseudintermedius*, показавший антагонистическую активность в отношении *Staphylococcus aureus*. Для вещества, обеспечивающего активность, была проведена оптимизация условий культивирования. Путём хроматографической очистки активного соединения и масс-спектрометрического анализа полученной фракции установлено, что антистафилококковое действие штамма обеспечивается секретлируемым ферментом массой 27 кДа. Посредством полногеномного секвенирования был установлен ген, кодирующий этот белок, принадлежащий семейству M23 цинковых металлопротеаз. Изучение природных бактериоцинов открывает новые возможности для создания антибактериальных белков и разработки новых стратегий борьбы с патогенами.

Работа поддержана грантом РФФ № 19-14-00331-П.

Комплексное изучение *Bacillus thuringiensis* spp. *aizawai* на картофеле

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

¹ Томский государственный университет, Томск, Российская Федерация

² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Российская Федерация

³ Новосибирский государственный технический университет, Новосибирск, Российская Федерация

Bacillus thuringiensis является почвенной бактерией с инсектицидными свойствами в отношении различных насекомых. Помимо регуляции численности вредителей, применение *Bacillus thuringiensis* возможно в защите растений от болезней, и также отмечена способность данных бактерий стимулировать развитие растений.

Цель работы – оценить ростостимулирующее и фунгицидное действия морфологических вариантов *Bacillus thuringiensis* spp. *aizawai* на картофеле, определить влияние на почвенную микробиоту и биохимические показатели листьев.

Морфологические варианты *B. thuringiensis* spp. *aizawai* обеспечили увеличение биомассы и длину стебля картофеля, позволили снизить распространённость ризоктониоза в период вегетации. Один из морфологических вариантов *B. thuringiensis* spp. *aizawai*, продуцирующий дельта-эндотоксин, способствовал повышению численности бактерии, усваивающих органический азот и целлюлозотитических бактерии. Обработка клубней морфовариантами *B. thuringiensis* spp. *aizawai* изменяла биохимические показатели листьев (активность пероксидазы, полифенолоксидазы и концентрация фотосинтетических пигментов).

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

Использование генетических коллекций для изучения структуры амилоидных агрегатов *in vivo*

Бондарев С.А.^{1,2}

¹ Кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Амилоиды — это белковые агрегаты с кросс-β структурой. Определение структуры амилоидных агрегатов на сегодняшний день является крайне трудоёмкой задачей. Современные биофизические методы могут решать эту задачу *in vitro*, но очевидно, что эти результаты сложно экстраполировать на живые объекты. В своей работе мы предложили подход, позволяющий приблизиться к решению этой проблемы и основанный на использовании коллекций дрожжевых штаммов и плазмид кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ. Другим важным компонентом этого метода стала программа BetaSerpentine, которая способна моделировать разнообразные варианты укладки белка в составе амилоидных агрегатов. Сочетание этих данных с результатами мутационного анализа позволяет выделить конкретные структуры, позволяющие объяснить эффекты замен *in vivo*. Например, если некая мутация приводит к элиминации амилоидных агрегатов, то можно предположить, что соответствующий белок не способен копировать их структуру. Таким образом, из множества вариантов укладки, смоделированных для исходного белка, можно исключить те, которые может формировать белок с анализируемой заменой. Мы проверили предложенный подход на примере белка Sup35, агрегаты которого являются молекулярной основой для дрожжевого приона [PSI⁺]. На кафедре генетики и биотехнологии существует богатая коллекция штаммов, позволивших решить эту задачу. В дополнение к ней была создана серия плазмид с аллелями SUP35 для проведения мутационного анализа и определения замен, дестабилизирующих определённые варианты [PSI⁺].

С другой стороны, мы предложили метод для количественной оценки размеров амилоидных агрегатов *in vivo*. Методика полуденатурирующего электрофореза в агарозном геле позволяет качественно сравнивать размеры белковых комплексов. Мы предложили модификацию этого подхода, позволяющую проводить количественный анализ. Новшество основано на использовании стандартных маркеров молекулярного веса ДНК в сочетании с подбором математической модели, описывающей взаимосвязь размера и подвижности молекул в агарозном геле. Для удобства широкого круга пользователей мы создали приложение AGECalibratoR, позволяющее легко проводить этот анализ. Для проверки сходимости результатов мы использовали штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с различными вариантами приона [PSI⁺], которые отличаются по размеру агрегатов Sup35. В серии повторностей нам удалось продемонстрировать статистически достоверную разницу в размерах агрегатов Sup35 между исследуемыми штаммами дрожжей.

В заключение необходимо сказать, что мы предложили и протестировали набор междисциплинарных методов и подходов для изучения структуры амилоидных агрегатов *in vivo*. Создание и использование этих методов стало возможно благодаря коллекциям кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ.

Серотипирование коллекционных штаммов как основа изучения разнообразия ризосферных бактерий рода *Azospirillum*

Бурыгин Г.Л.^{*,1,2,3}

- ¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов
- ² Саратовским государственным университетом генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, Саратов
- ³ Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Бактерии рода *Azospirillum* одна из наиболее активно используемых групп ризобактерий, используемых в современной агробиотехнологии в качестве компонентов биодобриений. Для данных бактерий характерна высокая активность азотфиксации и продукции ауксина, что при формировании ассоциативного симбиоза с широким кругом растений позволяет существенно повышать их урожайность. Коллекция ризосферных микроорганизмов ИБФРМ РАН является крупнейшей в мире по числу штаммов азоспирилл, находящихся на хранении. Целью данной работы было проведение серологических исследований разнообразия поверхностных антигенов клеток коллекционных штаммов рода *Azospirillum*.

В данной работе 70 штаммов азоспирилл из коллекции ИБФРМ РАН методом двойной радиальной иммунодиффузии были изучены на взаимодействие с антителами к О-антигенам 10 типовых и модельных штаммов рода. В зависимости от реакции с антителами к типовым штаммам *Azospirillum baldaniorum* Sp245, *Azospirillum brasilense* Sp7 и *Azospirillum lipoferum* Sp59b все исследованные штаммы были разделены на 4 серотипа. По формированию или отсутствию полос преципитации с антителами к 7 модельным штаммам внутри серотипов I и II было выделено по 7 серовариантов, внутри серогруппы III – 5 серовариантов, и внутри серогруппы IV – 19 серовариантов.

На основании проведенного серотипирования штаммов рода *Azospirillum* сотрудниками лаборатории биохимии ИБФРМ РАН было проведено определение химической структуры повторяющихся звеньев О-полисахаридов штаммов из различных серовариантов. Соотнесение результатов хемотипирования и серотипирования штаммов азоспирилл позволило на уровне первичной структуры антигенов объяснить их антигенные различия. Для полученных бактериальных липополисахаридов было проведено отдельное серологическое исследование

позволившее выделить промежуточные группы между серотипами I и II, а также между серотипами II и III.

Кроме того, полученная система серотипирования штаммов азоспирилл позволяет обоснованно выбирать штаммы для экспериментов по изучению рост-стимулирующей активности данной группы бактерий по отношению к растениям. Показано, что адсорбция клеток на корнях мягкой пшеницы в среднем более активно проходит для штаммов серотипов I и II. Штаммы серотипов I и II также оказались более активными стимуляторами роста микрорастений картофеля в условиях *in vitro*.

Таким образом, серотипирование коллекционных штаммов рода *Azospirillum* позволило систематизировать разнообразие штаммов и на основании различий в строении поверхностных антигенов лучше понять механизмы взаимодействия ризосферных бактерий с растениями.

Секвенирование и анализ генома бактерии *Formosa* sp. KMM 3963, выделенной из бурой водоросли *Saccharina japonica*

*Быстрицкая Е.П.**, *Недашковская О.И.*, *Отставных Н.Ю.*, *Исаева М.П.*

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

Род *Formosa*, впервые предложенный Ivanova et al. (2004), относится к семейству Flavobacteriaceae класса Flavobacteriia филума Bacteroidota и объединяет граммотрицательные, гетеротрофные, аэробные и палочковидные морские бактерии. Типовым видом является *Formosa algae*, который был изолирован из бурой водоросли *Fucus evanescens*, собранной в б. Кратерная (Курильские о-ва, Тихий океан) во время 23-й научной экспедиции НИС «Академик Опарин». При описании нового вида рода, *F. agariphila*, изолированного из зелёной водоросли *Acrosiphonia sonderi*, диагноз рода был уточнён благодаря способности нового вида к размножению почкованием, росту в анаэробных условиях и продукции оксидазы (Nedashkovskaya et al., 2006). В настоящее время род *Formosa* включает 7 валидно опубликованных видов, которые были изолированы из морской среды, включая арктические воды, моллюсков, донные осадки, зелёные и бурые водоросли.

Целью настоящего исследования является характеристика нового бактериального штамма KMM 3963, который был изолирован из бурой водоросли *Saccharina japonica*, собранной в б. Троицы зал. Петра Великого Японского моря.

Клетки штамма KMM 3963 были граммотрицательными, аэробными, палочковидными, подвижными посредством скольжения и оксидазо- и каталазоположительными. Они показали способность к гидролизу агара, желатина и альгината, но не казеина, крахмала, хитина, ДНК и твинов 20, 40 и 80. Рост нового изолята наблюдался при 4-32 °C и с 1-8% хлорида натрия.

Филогенетический анализ, основанный на секвенировании 16S рРНК гена, показал 99,3% сходства последовательности штамма КММ 3963 с типовым штаммом *F. undariae* WS-MY3T, и 96,4-98,8% с типовыми штаммами других видов рода *Formosa*.

Для определения таксономического положения штамма КММ 3963 было выполнено геномное секвенирование. Геном морской бактерии был получен на платформе MiSeq (Illumina, США). Прочтения были отфильтрованы по качеству и собраны *de novo* в контиги с помощью SPAdes 3.15.3, аннотация генома была проведена на сервере RAST. Геном КММ 3963 был собран в 28 контигов с N50 равным 329193 п.н., размер генома был оценен в 4118153 п.н. (полнота 99,35%, контаминация 0,65%), ГЦ-состав – 34,2%. Анализ, выполненный на сервере dbCAN3, показал, что геном штамма КММ 3963 обогащен генами углевод-активных ферментов, среди которых наиболее представленными были гены гликозил-гидролаз. Филогеномный анализ на основе последовательностей из 400 белков корового генома поместил штамм КММ 3963 к представителям рода *Formosa*. Рассчитанные показатели ANI, AAI и dDDH между *Formosa* sp. КММ 3963 и ближайшим типовым штаммом *F. agariphila* КММ 3901 составили 87,2%, 85,5% и 38,3%, соответственно. Полученные данные позволяют предположить, что штамм бактерий КММ 3963 может представлять новый вид рода *Formosa*.

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

Сходство и различие геномов *Lactococcus lactis*, размещенных в базе данных NCBI RefSeq

*Введенский А.В.**

Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины
Роспотребнадзора, Москва, Россия

* E-mail: vvedenskiia@gmail.com

В международных базах данных накоплено большое количество геномов молочнокислых бактерий. Сравнение геномов может выявить штаммы перспективные с точки зрения использования в молочной промышленности. При этом важное значение имеет уникальность генетической последовательности штамма.

Целью данной работы было сравнить геномы *Lactococcus lactis* депонированные в базе данных NCBI RefSeq и количественно описать сходство и различие между геномами, а также попытаться разделить генетически-родственные и далекие штаммы.

Для исследования были взяты 80 геномов *Lactococcus lactis* собранных до уровня скаффолдов. Филогенетический анализ последовательностей 16S рРНК

выявил три клады, большая из которых состояла из 34 штаммов, обладающих одинаковой последовательностью 16S.

Для данной группы из 34 штаммов было проведено попарное сравнение геномов с расчетом средней нуклеотидной идентичности (ANI). Значение ANI варьировало от 99,996 до 97,978%. Штамм MS22333, полученный из ферментированного верблюжьего молока в Эфиопии, показал наименьшие значения ANI при попарных сравнениях в 12 случаях из 33 и является генетически максимально далеким для данной группы.

Однако параметр ANI изначально был предложен для определения границы вида у бактерий и его разрешающей способности может быть недостаточно для разделения генетически-близких и далеких штаммов.

Чтобы оценить различие между геномами был использован K-мерный подход с последующим филогенетическим анализом для геномов, ранее использовавшихся для подсчета ANI. Геномы разбивались на K-меры, содержащие в центре однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Сравнение проводилось только между коровыми K-мерами, содержащимися у всех анализируемых геномов. Таким образом удалось выявить группы генетически-близких штаммов. Семь штаммов обладают наибольшим внутригрупповым генетическим сходством. При этом, как описано в работе [1], четыре штамма произошли от трех исходных в результате выработки устойчивости к бактериоцину Lcn972. Во всех случаях удалось верно определить генетическое родство штаммов в соответствии с литературными данными. Различие между родственными штаммами составляло от двух до девяти SNP. При этом кладограмма полученная на основе ANI не отражает генетическое родство между штаммами в двух случаях из трех.

Таким образом подсчет ANI и подсчет SNP в K-мерах можно использовать для сравнения геномов *Lactococcus lactis*. В случае генетически близких штаммов подсчет K-меров позволяет точнее определить ближайший генетически-родственный штамм.

ЛИТЕРАТУРА:

1. López-González M.J. et al. Adaptive Evolution of Industrial *Lactococcus lactis* Under Cell Envelope Stress Provides Phenotypic Diversity. *Front Microbiol.* 2018 9:2654.

Антимикробные соединения в регуляции численности клубеньковых бактерий

Владимирова А.А., Акимова Е.С., Матниязов Р.Т., Лавина А.М., Филяева К.Ю., Баймиев Ал.Х.

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук

Клубеньковые бактерии представляют собой группу почвенных микроорганизмов, которые преобразовывают молекулярный азот в усваиваемые растениями соединения в специализированных структурах – клубеньках, формируемых на корнях бобового растения. Таким бактериям-микросимбионтам для успешной колонизации и инфицирования корней растения-хозяина необходимо противостоять в конкурентной борьбе другим близкородственным ризобиям и посторонней микрофлоре ризосферы. Известно, что некоторые клубеньковые бактерии синтезируют бактериоцины: трифолицин и фазолицин. Это соединения пептидной природы, специфично подавляющие рост гомологичных ризобий т.е., по сути, их действие аналогично узкоспецифичным антибиотикам. Тем не менее, на данный момент крайне мало информации о регуляции численности ризобий посредством синтеза антимикробных веществ. Поэтому целью данного исследования было проведение скрининга штаммов из коллекции симбиотических бактерий дикорастущих бобовых растений Южного Урала «Симбионт» УФИЦ РАН на наличие продукции антибактериальных соединений. Было проанализировано 1019 штаммов бактерий рода *Rhizobium* (*Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium phaseoli*, *Neorhizobium galegae*) на синтез соединений, подавляющих рост родственных штаммов ризобий и контрольного штамма *E. coli* ΔTolC. В результате метаболиты 113 штаммов из коллекции оказали ингибирующее воздействие на рост контрольного штамма *Rhizobium leguminosarum* VSyl9 и 126 штаммов – на *Rhizobium phaseoli* PVu2. При этом 582 штамма подавляли рост *E. coli*, дефектного по гену порина TolC, отвечающего за вывод токсинов из клетки. Также в данной работе был проведен поиск факторов, которые бы активировали продукцию антимикробных соединений ризобиями. Известно, что молекулярный диалог между клубеньковыми бактериями и бобовыми начинается с синтеза флавоноидов растением. Эти сигнальные соединения регулируют поведение микросимбионтов вплоть до уровня экспрессии генов. Однако информации о влиянии флавоноидов на возможную активацию синтеза антимикробных соединений клубеньковыми бактериями на данный момент нет. Нами была проведена оценка влияния флавоноидов на синтез антимикробных веществ ризобиями. Показано, что внесение в среду флавоноидов у некоторых штаммов приводит к увеличению зоны подавления близкородственных штаммов клубеньковых бактерий. Также на жизнедеятельность симбиотических микроорганизмов влияют и другие почвенные бактерии, которые теоретически могут индуцировать синтез антимикробных веществ ризобиями. Исследуемые штаммы выращивали как совместно с близкородственными штаммами, так и с другими бактериями, а также с

добавлением их лизата. Таким образом, было показано, что некоторые штаммы клубеньковых бактерий способны продуцировать вещества, которые подавляют рост близкородственных штаммов, как без воздействия каких-либо факторов, так и при их наличии.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-24-00193, <https://rscf.ru/project/22-24-00193/>.

Анализ сайт-специфической интеграции фаговой ДНК, на примере штаммов *Sinorhizobium meliloti*, из центра итрагрессивной гибридизации люцерны

Владимирова М.Е. , Мунтян В.С., Румянцева М.Л.*

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

Фаговая ДНК, интегрированная в хромосомные гены тРНК или тмРНК, является типичным примером чужеродной ДНК в геноме бактерии. Интеграция или эксцизия последовательностей фагового происхождения имеет непосредственное отношение к их адаптации к различным экологическим нишам, и способствует быстрой эволюции бактерий. Фагоподобные последовательности (ФПП), существенно различаются между собой: это могут быть интактные или неполные профаги, а также геномные острова, которые привносят в геном бактерии не только гены фагового происхождения, но и последовательности бактерий далеких таксонов. Эти последовательности могут приводить к повышению вариабельности бактериальных геномов, а также влияют на внутри-рекомбинационные процессы. Цель данного исследования была оценить пул ФПП и локусы их преимущественной интеграции в геномы природных штаммов клубеньковых бактерий люцерны, *Sinorhizobium meliloti* (штаммы получены в рамках проекта ICA2-СТ-2000-10001), из района Приаралья (ПАГ), расположенного в центре итрагрессивной гибридизации люцерны. В рамках данной работы проведен анализ семи штаммов *S. meliloti* (геномы трех штаммов получены в рамках РФФ 17-16-01095). Поиск ФПП проводили с использованием PHASTER и IslandViewer 4. Выявлено 84 ФПП, которые были равномерно распределены по всем репликонам ($P > 0,05$). На один геном приходилось от 10-ти до 23-х ФПП и их доля составляла в среднем $4,0 \pm 0,8\%$, но не более $8,0\%$ от генома бактерии-хозяина. Вместе с тем, только четверть генов тРНК, из 52-х выявленных на хромосоме, являлась сайтами интеграции для 20% от указанных ФПП, согласно анализу с использованием tRNAscan-SE v. 2.0. Установлено, что преимущественно интеграция ФПП происходила в гены изоакцепторных тРНК-Lys ((ТТТ) и (СТТ)). Все интегрированные в гены тРНК последовательности содержали ген,

кодирующий интегразу. Анализ интеграз показал, что они имели сходство с тирозиновыми интегразами фагов, относящихся к разным семействам, что установлено с помощью viruSITE. Показано, что в ген тРНК-Lys(СТТ) были интегрированы phiLM21-подобные профаги, тогда как последовательности родственные разным фагам, две трети из которых были охарактеризованы как геномные острова, были интегрированы в ген тРНК-Lys(ТТТ). Таким образом, выявлена группа генов тРНК, являющихся сайтами интеграции ФПП у штаммов из центра итрагрессивной гибридизации люцерны, и интегразы, специфичные к данным сайтам, что представляет интерес при конструировании хозяйственно-ценных штаммов *S. meliloti* с заданными характеристиками.

Исследование выполнено в рамках Госзадания № FGEW-2021-0006.

Поддержание и пополнение биокolleкции штаммов спорыньи *Claviceps purpurea* – основа для метаболической инженерии эргоалкалоидов

Волнин А.А., Цыбулько Н.С., Бобылева Р.И.

ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений"

Спорынья является крайне важным источником биологически активных веществ, используемых для производства лекарственных препаратов, а также серьезным патогеном сельскохозяйственных и пастбищных растений, наносящим значительный экономический ущерб растениеводческой и животноводческой отраслям во всем мире. В России при участии ФГБНУ ВИЛАР разработан ряд лекарственных препаратов на основе алкалоидов спорыньи: абергин (α , β -эргокриптины), новокристин (дигидроэргокристин), беллатаминал (эрготамин), эргометрина малеат (эргометрин).

Биоллекция ФГБНУ ВИЛАР включает пять штаммов паразитарной культуры спорыньи *Claviceps purpurea* (Fries) Tulasne (продуценты α , β -эргокриптинов, эрготамина, эрготоксина, эргокристина и эргокорнама). Все паразитарные штаммы поддерживаются в активном состоянии, в том числе проходят этап сезонного культивирования в полевых условиях на посевах озимой ржи. Кроме того, зарегистрированы два сапрофитных штамма спорыньи (продуценты эргокриптина и эрготамина), которые также поддерживаются в условиях коллекции.

В настоящее время ведется работа по селекции новых сапрофитных линий-продуцентов эргоалкалоидов: с помощью отбора в аксенической культуре по признакам пурпурной пигментации мицелия и наличия синтеза алкалоидов были выделены, изолированы, и субкультивированы 2 устойчивые линии (эрготоксиновая А-

6-С, эрготоксиновая ВКМ- F-2450-D-С), способные продуцировать эргоалкалоиды в условиях *in vitro* культивирования на агаризованной питательной среде.

Основными проблемами производства эргоалкалоидов являются: большое разнообразие синтезируемых алкалоидов, что усложняет последующие рабочие процессы экстракции и очистки от побочных продуктов и увеличивает стоимость производства, а также нестабильность и склонность к деградации сапрофитных штаммов в процессе культивирования и хранения, сапрофитные штаммы теряют склероциоподобную клеточную морфологию мицелия с необратимой потерей способности продуцировать алкалоиды. Алкалоид-синтезирующая форма мицелия является исходным материалом для метаболической инженерии спорыньи и дает возможность получения промышленных «дизайнерских» рекомбинантных и мутантных сапрофитных линий с повышенным уровнем синтеза алкалоидов или направленных на выработку целевого алкалоида повышенной чистоты.

В связи с низкой стабильностью и тенденцией к вырождению сапрофитных штаммов спорыньи крайне важное значение имеет сохранение биологических ресурсов *Claviceps purpurea*, что дает возможность относительно быстрого и эффективного получения новых сапрофитных линий.

Исследования проводились с использованием биобъектов Уникальной научной установки «Биоколлекции ФГБНУ ВИЛАР». Работа выполнена в рамках темы НИР ФГБНУ ВИЛАР «Формирование, сохранение и изучение биоколлекций генофонда различного направления с целью сохранения биоразнообразия и использования их в технологиях здоровьесбережения» (FGUU-2022-0014).

Бактериальная смесь, разработанная для уплотнения почв путем биоминерализации

Головкина Д.А.^{*1,2}, Журишкина Е.В.^{1,2}, Кульминская А.А.^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина, Россия

² Курчатовский геномный центр — ПИЯФ, Гатчина, Россия

Механические свойства природных грунтов чаще всего оказываются недостаточными для удовлетворения растущих потребностей в области гражданского строительства. Данная задача решается за счет обеспечения устройства однородного, хорошо уплотненного земляного полотна. В настоящее время в сфере строительства используется химическая цементация, но такой подход может негативно сказаться на экологии окружающей среды. В качестве «зеленой» альтернативы данного метода, предлагается укрепление грунта при помощи минералообразующих микроорганизмов или биоцементации. В результате улучшаются геотехнические свойства грунта за счет связывания почвенных частиц образующимися минералами. Наиболее известными

методами биоцементации являются ферментативно-индуцированное осаждение и микробиологическое осаждение CaCO_3 , где процессы вызываются уреоллизом. В процессе уреоллиза происходит гидролиз мочевины за счет метаболических реакций микроорганизмов, что вызывает осаждение минералов карбоната кальция, который осаждается в пустотах почвы, тем самым увеличивая ее прочность [1].

Целью данной работы был скрининг уреолитических микроорганизмов, способных к биоминерализации и последующему уплотнению грунта. В ходе работы было отобрано пять штаммов, обладающих высокими параметрами уреазной активности и образования карбоната кальция. Штаммы были охарактеризованы и идентифицированы по 16S РНК [2]. Следующим этапом была составлена бактериальная смесь и проверена на ее способность уплотнять небольшие образцы почвы по сравнению с отдельными штаммами в лабораторных условиях. В результате смесь, составленная из бактерий *B. subtilis* K51, *B. subtilis* 168, *M. luteus* 6, *B. Cereus* BL, показала хорошие результаты по параметрам образованного карбоната кальция и прочности на одноосное сжатие. Далее с помощью данного микса были проведены полевые испытания уплотнения почвы. Участок, обработанный бактериальной смесью и цементирующим раствором, показал увеличение механических свойств почвы в два раза по сравнению с контролем, обработанным водой.

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

ЛИТЕРАТУРА:

1. Khodadadi H., Kavazanjian E. and Bilsel H. Mineralogy of calcium carbonate in MICP-treated soil using soaking and injection treatment methods. Geotechnical Frontiers, 2017 Conf. 195–201.
2. Golovkina D.A., Zhurishkina E.V., Ivanova L.A., Kulminskaya A.A., et al. Calcifying Bacteria Flexibility in Induction of CaCO_3 Mineralization. Life. 2020. 317.

Как резистентная популяция насекомых помогает улучшать бактерии *Bacillus thuringiensis*

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

¹ ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, 630039 г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

² Государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

Bacillus thuringiensis (БТ) является одной из наиболее распространенных энтомопатогенных бактерий, используемых в качестве биопестицида и источника генов

токсинов для создания устойчивых к насекомым трансгенных растений. Важным аспектом снижения эффективности биологических препаратов на основе бактерий БТ является формирование устойчивых популяций насекомых вредителей. Механизмы, лежащие в основе восприимчивости или устойчивости насекомых к *B. thuringiensis*, разнообразны. Микроэволюционные механизмы формирования устойчивости насекомых к бактериям были изучены на популяции личинок большой вошинной огневки *Galleria mellonella*, селектированной на устойчивость к бактериям БТ. Показано увеличение уровня экспрессии генов антибактериальных веществ в кишечнике у устойчивой линии при сравнении с контрольной, а также индукция экспрессии при заражении бактериями БТ. Установлено, что РНК интерференция ключевых генов антибактериальной защиты личинок *G. mellonella* приводит к увеличению чувствительности насекомых к бактериям *B. thuringiensis*. Микробиота насекомых играет важную роль в жизнедеятельности насекомых, кроме того, считается, что кишечная микробиота может быть дополнительным фактором, усиливающим вирулентность бактерий БТ. В результате проведенных исследований показано, что селекция личинок большой вошинной огневки на устойчивость к бактериям БТ приводит к снижению разнообразия и числа бактерий в кишечнике, в том числе патогенных. Кроме того, показаны отличия в количестве бактерий БТ в кишечнике зараженных насекомых, а также в погибших после заражения насекомых устойчивой и контрольной линий. Жизненный цикл бактерий не заканчивается со смертью хозяина, они продолжают использовать погибших насекомых для размножения и образования спор. Впервые изучен уровень экспрессии генов факторов вирулентности бактерий БТ в насекомых устойчивой и контрольной линий, погибших после заражения бактериями БТ. Показано, что в течение 48 ч после инокуляции устойчивые к БТ насекомые способны очищать среднюю кишку от бактерий. Те устойчивые насекомые, которые не смогли побороться с инфекцией и погибли, содержали субпопуляцию бактерий, которые ускоренно переходили в стратегию некротрофии и споруляции, по сравнению с бактериями в погибших чувствительных насекомых. Серия пассажей бактерий БТ через устойчивого хозяина приводила к повышению вирулентности бактерий БТ. Такой подход может быть перспективен для повышения эффективности биопрепаратов на основе энтомопатогенных микроорганизмов. Полученные результаты рассмотрены с точки зрения стратегии формирования устойчивых популяций и жизненных стратегий бактерий БТ в устойчивых популяциях насекомых.

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

Современная информационная система — необходимое условие эффективной работы специалистов биобанка

Гузев К.В.^{2}, Куриленко В.В.¹, Быстрицкая Е.П.¹, Отставных Н.Ю.¹, Балдаев С.Н.¹, Чаусова Е.В.¹, Ильин И.Е.², Лысюк П.А.², Михайлов В.В.¹, Исаева М.П.¹*

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

² Общество с ограниченной ответственностью «Бюротика», Владивосток, Россия

Работа современного биобанка невозможна без надлежащей информационной поддержки процессов управления биобанкированием и исследованиями объектов биокolleкций. Информационная система, разработанная для коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН (ИС) обеспечивает информационную поддержку процессов управления биобанками и биоресурсными коллекциями, формирует реестры, каталоги, картотеки, собрания, коллекции биоресурсов. Обеспечивает сбор, систематизацию, хранение, обработку, сопровождение, консолидацию различных типов библиографических, лабораторных и других научных данных. Предоставляет широкие возможности для управления и настройки прав пользователей ИС. Имеет программируемый генератор кодов объектов хранения, средства статистической обработки и подготовки данных для научных публикаций. Обеспечивает двусторонний обмен данными, сигналами состояний и управляющими командами с лабораторным оборудованием. Управляет состояниями информационных записей с помощью искусственного интеллекта, реагирующего на события данных. Проводит автоматическое уведомление персонала посредством электронной почты и СМС, дает авторизованный доступ к информации через локальную сеть, интранет, интернет. Передаёт публичную информацию об услугах и объектах биокolleкции на её сайт kmtb44.ru в автоматическом режиме. Предоставляет широкие возможности импорта и экспорта данных. Содержит систему интеграции с внешними системами (API), реализованную в виде двух подсистем «API-объекты» и «API-заказы». ИС снабжена генератором отчетных форм и встроенной защитой от вирусов.

ИС построена по модульному принципу, данные модуля организованы в иерархическом порядке. Структура данных и правила работы с ними могут быть гибко настроены пользователями ИС в соответствии с действующими национальным законодательством, отраслевыми стандартами и передовыми практиками.

Специалисты и клиенты коллекции морских микроорганизмов ТИБОХ ДВО РАН получили современное средство автоматизации своей профессиональной деятельности.

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

ЛИТЕРАТУРА:

1. ГОСТ Р ИСО 20387-2021 Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования

2. ГОСТ Р 59781-2021 ISO/TR 22758:2020 Биотехнология. Биобанкинг. Руководство по внедрению ИСО 20387
3. Передовые практики ISBER: рекомендации для хранилищ, разработанные Международным обществом биологических и экологических репозиториев (ISBER), 2005-2018
4. MIRRI Information System (MIRRI-IS) MIRRI-IS dataset (Version 5)

Оценка адаптивного потенциала оксифильных микроорганизмов озера Байкал

М.Е. Дмитриева, В.Н. Шелковникова, А.Ю. Бельшенко, Т.Ю. Тельнова, А.А. Власова, Д.В. Аксёнов-Грибанов*

Иркутский Государственный Университет

В настоящее время особое внимание уделяется роли окислительного стресса в развитии нейродегенеративных заболеваний. По сообщениям современных аналитических агентств, за последние 20 лет рынок лекарственных препаратов, разработанных для терапии нейродегенеративных заболеваний, увеличился в 5 раз и ожидается, что среднегодовой темп роста составит 6,93% в течение ближайших 5 лет. По состоянию на апрель 2023 г. в клиническую практику внедрен ряд лекарственных препаратов, относящихся к антиоксидантным средствам, произведенным в России и странах СНГ. Например, Гистохром, Метостабил и др. Большинство препаратов применяются для лечения дистрофических заболеваний сетчатки, неврозов, абстинентного синдрома, но не для нейродегенерации. Это ведет к необходимости разработки новых лекарственных препаратов для терапии нейродегенерации и поиску новых организмов-продуцентов биологически-активных молекул. Среди всего разнообразия организмов-продуцентов, наиболее редкими и неизученными являются микроорганизмы, которые обитают в условиях повышенного содержания кислорода в среде. Перспективным местом поиска служит озеро Байкал, поскольку организмы обитают в условиях повышенного содержания кислорода и выработали защитные механизмы путем синтеза антиоксидантов.

Целью данной работы являлась оценка влияния повышенных концентраций кислорода на синтез антиоксидантов у оксифильных микроорганизмов озера Байкал. Для эксперимента проведен пробоотбор байкальской воды в пос. Большое Голоустное и Бугульдейка из 9 зон с различными концентрациями кислорода. Воду использовали для выделения оксифильных микроорганизмов, идентификации по гену 16S рРНК и метагеномного секвенирования прокариот. Выделенные микроорганизмы культивировали в условиях повышенного окислительного фона для индукции синтеза антиоксидантов. Анализ состава природных соединений проводили при помощи хромато-масс-спектрометрии высокого разрешения и базы данных Dictionary of Natural Products (CRC press, V.2018).

Согласно материалам метагеномного анализа, в зоне с наиболее высоким содержанием кислорода (21,1 мг/дм³) было обнаружено минорные 2 филы, исключительные для данной зоны. К ним относились филы *Armatimonadetes* (OTU 0,013± 0,013168%) и *Tenericutes* (OTU 0,01± 0,01004%). Для зоны с концентрацией кислорода 16,15 мг/дм³ в поселке Бугульдейка исключительными оказались филы *Deinococcus-Thermus* (OTU 0,01± 0,01204%) и *Dependentiae* (OTU 0,01± 0,01807%).

В настоящее время было показано, что антиоксиданты синтезируют 8 штаммов, 3 штамма *Flavobacterium* sp., 1 штамм *Janthinobacterium* sp., 1 штамм *Aquaspirillum* sp. и 3 штамма *Pseudomonas* sp. Установлено, что штамм *Aquaspirillum* sp. синтезирует такие антиоксиданты, как N-ацетил-4-гидроксибензиламин (CAS № 34185-04-1) и Арзанол (CAS № 32274-52-5).

Таким образом, показано, что кислород оказывает влияние на микроорганизмы озера Байкал, адаптированные в природе к его высокому содержанию.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Минобрнауки России FZZE 2021-0013.

Энтомопатогенные бактерии и грибы - источник новых решений для защиты растений и биотехнологий

Дубовский И.М.^{1,2}

¹ Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

² Томский государственный университет, Томск, Россия

Энтомопатогенные бактерии *Bacillus thuringiensis* и грибы рода *Metarhizium* активно используют для создания инсектицидных препаратов для защиты растений. На их долю приходится большая часть рынка биологических средств защиты растений в России. Кроме основы биоинсектицидов, бактерии *B. thuringiensis* являются основным источником генов для трансгенеза сельскохозяйственных растений, а энтомопатогенные грибы рода *Metarhizium* начинают активно использоваться в качестве биоудобрений. В докладе будут представлены механизм действия и пути повышения эффективности биологических препаратов на основе бактерий и грибов. Современные разработки по генетической трансформации энтомопатогенов и использование РНК интерференции будут рассмотрены, как стратегии, для увеличения активности биопрепаратов. Кроме того, будут показаны пути формирования резистентности насекомых вредителей к бактериям *B. thuringiensis* и перспективные подходы задержки формирования и преодоления устойчивости. Будет обсуждаться возможность использования энтомопатогенных микроорганизмов и их консорциумов в качестве полифункциональных и ростостимулирующих препаратов в сельском хозяйстве.

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

От цианобактерий до зеленых водорослей: роль сигнальных белков PII в контроле метаболизма

Ермилова Е.В.

Санкт-Петербургский государственный университет

Некоторые белки – процессоры сигналов – оказались консервативными в процессе эволюции и функционируют не только у прокариот (бактерий и архей), но и у эукариот. Примером таких сигнальных процессоров являются белки из семейства PII. Анализируется, как свойства белков PII и их роль в контроле метаболизма изменялись в процессе эволюции с учетом структурно-функционального разнообразия фотосинтезирующих микроорганизмов, цианобактерий и зеленых водорослей.

Динамика таксономического состава и разнообразия микробиома в хроносерию разновозрастных агрогенных и постагрогенных почв криолитозоны (на примере Надымского р-на ЯНАО)

Жемчужева Д.А.^{1}, Низамутдинов Т.И.¹, Печкин А.С.³, Зверев А.О.^{1,2}, Андронов Е.Е.^{1,2}, Абакумов Е.В.¹*

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

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

³ ГАУ ЯНАО “Научный центр изучения Арктики”, Салехард, Россия

Действующие и залежные сельскохозяйственные угодья Арктической зоны представляют собой ценный ресурс, который может сыграть решающую роль в обеспечении продовольственной безопасности северных регионов. Повторное использование заброшенных с/х земель может способствовать снижению экологических рисков и минимизации количества вновь освоенных почв криолитозоны. Исследований, направленных на оценку количества, параметров плодородия и таксономического состава микробиома агропочв в высоких широтах в настоящий момент недостаточно. Следовательно, необходимы мониторинговые и хроносериальные

исследования, направленные на изучение изменений в таксономическом составе почвенного микробиома – поскольку деятельность микроорганизмов играет важную роль в формировании почвенных свойств и режимов. Использование ретроспективного анализа в хроносерийных почвенных рядах позволит проследить разнонаправленные процессы почвенного онтогенеза от зональных почв до наиболее старых залежей, и выявить закономерности изменчивости микробного разнообразия этих почв на различных стадиях постагрогенной эволюции почвенного профиля.

В работе проведена оценка таксономического разнообразия микробиома залежных и используемых в сельском хозяйстве в настоящее время почв Надымского района ЯНАО. Были изучены агроземы со сроками с/х использования 2 и 3 года, а также залежные почвы возрастом от 14 до 28 лет. Наиболее распространенными типами почвенных микроорганизмов в образцах, отобранных из действующих агроземов и постагрогенных почв, были филы *Proteobacteria* (40,25%), *Actinobacteria* (16,12%) и *Bacteroidetes* (11,27%). Для действующих агроземов были обнаружены представители фил *Euryarchaeota* и *Chloroflexi*. Для залежных почв выявлено увеличение биоразнообразия – вычисленные значения индексов альфа-разнообразия (Шеннона и Симпсона) показали, что наиболее старовозрастные залежные почвы (от 14 до 28 лет) отличаются по своему микробиологическому портрету от антропогенно-нарушенных почв (срок с/х использования от 2 до 3-х лет). Согласно данным о бета-разнообразии микробиом действующих агроземов и залежной почвы (14 лет) имел таксономический состав, сгруппированный в PCoA в своем собственном кластере, в то время как образцы почв из залежного (14 лет) тепличного комплекса и залежного (28 лет) поля имели высокую изменчивость между репликами. Были определены различия на уровне рода между микробиомами залежей разных возрастов с помощью анализа DESeq2, который оценивает зависимость между средним числом прочтений и дисперсией филотипа между набором образцов.

Таким образом в процессе работы было выявлено, что микробиологический портрет в хроносерийном ряду разновозрастных почв изменяется в сторону увеличения таксономического разнообразия фил *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Nitrospirae*, *Verrucomicrobia* (для залежей) и *Actinobacteria*, *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Euryarchaeota* (для действующих агропочв).

Работа выполнена при поддержке НЦМУ «Агротехнологии будущего», грант № 075-15-2022-322.

Подходы к очистке культур коллекционных штаммов микроводорослей

Зайцева А.А.* , Бахарева Д.А., Васильева С.Г., Зайцев П.А., Лобакова Е.С.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Москва, Россия

Микроводоросли (Мв) являются важнейшим объектом биотехнологических исследований как продуценты ряда ценных химических соединений, таких как пигменты, жирные кислоты, белки, витамины и др. В коллекциях Мв могут быть подвержены контаминации гетеротрофными организмами, преимущественно бактериями и грибами. Получение аксеничных культур Мв и их анализ позволяют изучать непосредственные свойства отдельных организмов, поддерживать стабильность продуктивности культур, а также использовать их для молекулярно-генетических анализов, требующих генетической однородности. В данной работе приводятся результаты подбора и применения протокола аксенизации культур ряда штаммов микроводорослей с помощью комбинации методов очистки.

Объектами исследования являлись штаммы микроводорослей из коллекции кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова (NAMSU) и Всероссийской коллекции микроводорослей и цианобактерий ИФР им. К.А. Тимирязева РАН (IPPAS): *Halochlorella rubescens* NAMSU SBB-20, *Coelastrella rubescens* NAMSU R1 (IPPAS C-2066), *Bracteacoccus aggregatus* NAMSU BM5/15 (IPPAS C-2045), а также *Lobosphaera incisa* IPPAS C-2047. Для проведения очистки данных штаммов от контаминации гетеротрофными организмами применяли комбинацию методов физического и химического воздействия. Анализ чистоты культур проводили методами оптической светлоструйной и сканирующей электронной микроскопии, методом ПЦР, а также с помощью 16S рРНК ДНК-метабаркодинга на платформе Illumina. Подбор протокола очистки проводили на штамме *L. incisa* IPPAS C-2047.

Был подобран протокол очистки культур путем комбинации обработки ультразвуком, центрифугирования в градиенте сахарозы, посева на чашки Петри с повышенным содержанием агара и добавленной смесью антибиотиков широкого спектра действия. С помощью данного протокола были получены аксеничные штаммы Мв *L. incisa* IPPAS C-2047, *H. rubescens* NAMSU SBB-20 и *B. aggregatus* NAMSU BM5/15. Анализ полученных аксеничных культур методами микроскопии не выявил находящихся в культуральной жидкости или на поверхности клеток Мв бактерий. Гель-электрофорез ПЦР-продукта по гену 16S рРНК характеризовался наличием полос соответствующей для данного гена длины (1400 п.н.), однако 16S рРНК ДНК-метабаркодинг образцов показал отсутствие или крайне низкую представленность прокариотической ДНК в составе коротких чтений NGS (менее 1,5 %), остальные чтения были представлены эукариотической пластидной и/или митохондриальной ДНК. Данные результаты позволяют сделать вывод об аксеничности полученных штаммов. Анализ штаммов Мв теми же методами спустя шесть месяцев пребывания культур в закрытой колбе показал отсутствие бактериальной и грибной контаминации.

В результате работы был подобран протокол очистки культур Мв из коллекций NAMSU и IPPAS и получено три аксеничных культуры из исследуемых четырех

штаммов микроводорослей. Показана стабильность аксеничности данных штаммов в течение времени.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант № 23-74-00037.

Штамм *Bacillus amiloliquefaciens* P20 – перспективы использования для борьбы с болезнями картофеля

Заплаткин А.Н.^{1*}, Чеботарь В.К.¹, Келейникова О.В.¹, Баганова М.Е.¹, Балашев Н.А.¹, Лазарев А.М.², Хютти А.В.², Быстрицкий А.А.³

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

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

³ Общество с ограниченной ответственностью «АгроИнтер», Ленинградская область, Россия

*vladchebotar@rambler.ru

Для селекции картофеля актуальным является использование эффективных и экологически безопасных микробиологических препаратов, повышающих продуктивность и устойчивость растений к неблагоприятным факторам среды и болезням. С целью создания микробиологического препарата для борьбы с болезнями картофеля, из клубней картофеля с.Сударыня выделен и отобран штамм эндофитных бактерий *Bacillus amiloliquefaciens* P20, способный ингибировать рост фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani*, а также *Fusarium solani*, *F.culmorum*, *F.oxysporum* и *Alternaria solani*, а также фитопатогенных бактерий *Pectobacterium atrosepticum*, *Clavibacter michiganensis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* в лабораторных опытах на чашках Петри. Разработана технология производства и применения микробиологического препарата на основе штамма *Bacillus amiloliquefaciens* P20 в качестве средства защиты картофеля от болезней под названием Ризофайт. Проведена оценка биологической эффективности применения микробиологического препарата на основе штамма P20 качестве протравителя для контроля почвенной инфекции ризоктониоза в условиях искусственного инфекционного фона. Показано, что биологическая эффективность микробиологического препарата БисолбиСан (стандарт, *Bacillus subtilis* Ч-13) и препарата на основе штамма P20 к чистому контролю составила от 70,37 до 76,09 % соответственно. При этом, биологические варианты защиты картофеля отличались от химического контроля всего на 24,9 – 19,2 %, что говорит о высоком потенциале препаратов по защите, как молодых растений на первых этапах развития, так и формирующегося урожая. Проведено испытание

эффективности микробиологического препарата на основе штамма P20 для защиты новых сортов картофеля от болезней в Ленинградской области в производственных опытах на базе ООО «АгроИнтер». По результатам производственных испытаний показано, что применение штамма *Bacillus amiloliquefaciens* P20 достоверно повышало урожайность картофеля на 2,13 – 4,81 т/га на новых сортах картофеля Чароит и Гусар, что составляет от 6,1 до 15,8 % к чистому контролю без использования пестицидов и агрохимикатов.

Показано, что штамм *Bacillus amiloliquefaciens* P20 является перспективным для выращивания семенного картофеля, поскольку не только снижает ретардантный эффект от применения химических протравителей, но и стимулирует рост растений и формирование урожая, а также обладает большим потенциалом в сдерживании почвенной инфекции, в первую очередь ризоктониоза.

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

Использование тест-систем для детекции фитопатогенных фузариевых грибов в почвах агроценозов

Иванова Е.А.^{1*}, Стахеев А.А.², Тхакахова А.К.¹, Ксенофонтова Н.А.¹, Семенов М.В.¹

¹ ФГБНУ ФИЦ Почвенный институт им. В.В. Докучаева

² Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

Фузариоз опасен как высокой выживаемостью фузариев в почве, так и продуцированием большого спектра токсинов разной степени опасности для растений, животных и человека. Основная часть микотоксинов, продуцируемых фитопатогенными фузариями, – токсины трихотеценовой группы. Их можно подразделить на две группы: «А»-продуценты (*F.sporotrichoides*, *F.sibiricum*, *F.langsethiae*) и «В»-продуценты (*F.graminearum*, *F.culmorum*, *F.cerealis*, *F.ussurianum*). Целью работы была оценка дифференциального обилия данных групп фузариевых грибов в дерново-подзолистых почвах агроценозов с использованием коммерческих тест-систем, включая также оптимизацию их использования применительно к почвенным образцам.

Объектами служили образцы, отобранные с делянок полевых опытов во Владимирской обл. (ВНИИОУ, филиал ФГБНУ "Верхневолжский ФАНЦ"), и в Тверской обл. (ВНИИМЗ). Отбор осуществляли под различными культурами (картофель и ячмень во ВНИИОУ, картофель и озимая пшеница во ВНИИМЗ) и из двух локусов – ризосферы и окружающей почвы. Образцы отобраны в вариантах с различными

системами удобрений – во ВНИИМЗ – в вариантах без удобрений и с применением минеральных удобрений, во ВНИИОУ в анализ включены также органическая и органоминеральная системы удобрений.

Методы включали: 1) выделение тотальной почвенной ДНК с использованием коммерческих наборов (MPBio, ...); 2) проведение ПЦР для количественной детекции: а) общего количества (обилия) грибов (с использованием системы праймеров ITS 1f/5.8 s); б) общего количества грибов р. *Fusarium* (по количеству копий гена фактора элонгации-трансляции - *tef1-α*); в) обилия потенциальных фитопатогенных фузариевых грибов, «А»- и «В»- продуцентов трихотеценовых микотоксинов, с использованием коммерческих тест-систем, на основе гена фактора элонгации-трансляции, *tef1-α*) (<https://agrodiagnostica.ru/sets/pcr/>).

Основными факторами, определяющими обилие грибов, являлись локус отбора (с увеличением в ризосферах сельскохозяйственных культур), а также система удобрений (органическая система в ВНИИОУ и минеральные удобрения в почвах ВНИИМЗ). Во образцах почв ВНИИОУ доля фузариумов в обилии общих грибов достигала практически 1%, в то время как в образцах из ВНИИМЗ не превышало 0,25%, что может быть связано с применением фунгицидов на этих полях.

Тренд на увеличение обилия в ризосферных локусах сохранялся в целом и для исследуемых групп фузариевых грибов, при этом, наиболее явный эффект в обилии исследуемых фузариев был отмечен для образцов ризосфер картофеля и ячменя на полях ВНИИОУ. Наблюдаемый «ризосферный» эффект картофеля может быть объяснен, по-видимому, присутствием определенного количества растительных остатков предшествующей культуры в севообороте – овса, являющегося предшественником картофеля в предыдущем году. С ризосферами злаковых культур было ассоциировано обилие фузариев из «В»-группы. Применение удобрений в целом оказывало положительное воздействие на обилие определяемых групп фитопатогенов.

Исследования поддержаны грантом РФ № 21–76–10025.

Характеристика эндолитного штамма *Nocardia mangyaensis* H1

*Ивойлова Т.М.**, *Валеева Л.Р.*, *Лайков А.В.*, *Шарипова М.Р.*, *Хиляс И.В.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Эндолитные авто- и гетеротрофные бактерии, микромицеты и лишайники колонизируют и выживают внутри минералов и камней, несмотря на экстремальные условия. Эндолиты вовлекаются в геохимические процессы, включая образование, растворение или разрушение минералов благодаря способности продуцировать металлсвязывающие метаболиты, например, сидерофоры, экстраклеточные полимерные соединения, биосурфактанты. Сидерофоры представляют собой

низкомолекулярные соединения, основная функция которых связывание труднодоступного железа из окружающей среды, его перевод в доступную форму и транспортировка внутрь клеток. Кроме того, бактериальные сидерофоры принимают участие в процессах биоремедиации, биовыветривания, ингибирования фитопатогенов, а также повышения усвоения питательных веществ растениями. Актинобактерии являются одной из преобладающих групп, успешно колонизирующих и выживающих в эндолитных условиях. Среди всех представителей актинобактерий, род *Nocardia* относится к редким эндолитам, но широко распространенным в различных водных и наземных экосистемах.

Целью данной работы явилось всестороннее исследование свойств штамма *Nocardia mangyaensis* H1, выделенного из минерала гидромагнетита (Халиловский массив, Оренбургская область). В ходе работы было обнаружено, что штамм *N. mangyaensis* H1 продуцирует сидерофоры, биосурфактанты, индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) и способен к росту на среде с лигнином в качестве единственного источника углерода и энергии. Штамм *N. mangyaensis* H1 не обладает протеолитической, амилазной, фитазной, липазной и нуклеазной активностями. Исследование фитотоксических свойств штамма *N. mangyaensis* H1 не показало угнетения роста модельного объекта *Arabidopsis thaliana*. Рост-стимулирующая активность штамма *N. mangyaensis* H1 была обнаружена при обработке семян пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Обработка не повлияла на энергию прорастания и всхожести семян пшеницы, однако наблюдалось увеличение сырой и сухой массы корней и побегов по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, охарактеризованы культуральные и рост-стимулирующие свойства эндолитного штамма *N. mangyaensis* H1. Установлена способность штамма продуцировать сидерофоры, биосурфактанты и ИУК, что в дальнейшем позволит исследовать возможности применения данного штамма и его метаболитов в качестве антибактериальных, антифунгицидных агентов, а также стимулирующих рост растений в сельском хозяйстве. Более того, данный штамм имеет большой потенциал для изучения и последующего использования в процессах биоремедиации территорий, загрязненных тяжелыми металлами.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) при финансовой поддержке РФФИ в рамках проекта № 22-16-00138.

Пластичность резистома природных биотопов человека

Ильина Е.Н., Старикова Е.В.

НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора

Устойчивость (резистентность) микроорганизмов к антибактериальным препаратам и дезинфицирующим веществам снижает эффективность профилактики и лечения инфекционно-воспалительных заболеваний человека, что создает глобальные проблемы в местах оказания медицинской помощи. По оценкам CDC (центр контроля и профилактики заболеваний США), около двух миллионов случаев нозокомиальных инфекций, вызванных резистентными микроорганизмами, приводят или сопутствуют 100 000 смертям ежегодно. К сожалению, эти же штаммы не поддаются элиминации из внешней среды применяемыми средствами дезинфекции. На фоне пандемии новой коронавирусной инфекции в период бесконтрольного использования антибиотиков и дезинфицирующих средств ожидается рост популяции таких штаммов. Мониторинг средствами бактериологического тестирования, основанный на изолировании чистых культур бактериальных патогенов, видит только верхушку айсберга истинного распространения резистентности в микробных популяциях. Современные технологии высокопроизводительного метагеномного секвенирования позволяют обнаружить всю совокупность генов резистентности в исследуемом биотопе (резистом), открывая возможность отслеживать пути возникновения и распространения устойчивости как комменсальных, так и патогенных бактерий из различных мест обитания. Развитие представлений о резистоме природных микробиоценозов человека позволяет продвинуться в понимании целого ряда проблем – от предсказания клинической эффективности антимикробной терапии, до расшифровки молекулярных механизмов формирования устойчивости бактериальной флоры к биоцинам и путям преодоления этого процесса. В проводимых нами исследованиях, поддержанных государственным заданием № 122030900064-9, мы отслеживаем пластичность популяционного резистома человека на фоне лекарственной терапии и временной динамике.

Анализ вторичных метаболитов, синтезированных бактериальными штаммами при росте на лигнинсодержащих субстратах

Имидоева Н.А.^{1}, Малыгина Е.В.¹, Бельшенко А.Ю.¹, Аксёнов-Грибанов Д.В.¹*

¹ ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет

Проблема утилизации промышленных и техногенных отходов выступает одной из наиболее значимых и актуальных. Значительную часть отходов, не утилизируемых в Иркутской области, составляют химически измененные лигнинсодержащие

субстанции, в частности – гидролизный лигнин. Такие отходы являются трудно разлагаемыми и способны накапливаться в больших количествах, занимая большие площади.

Большой интерес представляют микроорганизмы, населяющие такие субстраты. Известно, что бактерии, осуществляющие процессы деструкции, обладают адаптированным метаболизмом и способны к синтезу биологически активных соединений. Поэтому сейчас актуальны исследования, направленные на поиск микроорганизмов, способных не только осуществлять процессы биологической конверсии веществ различного происхождения, но и для создания новых действующих агентов для фармацевтических препаратов на основе их вторичных метаболитов.

Целью работы было выделение чистых культур бактерий-деструкторов, населяющих образцы гидролизного лигнина, и оценка их биотехнологического потенциала. Пробы гидролизного лигнина собраны на территории Байкальского целлюлозно-бумажного комбината. Образцы посеяны газомом на различные по составу питательные среды: NL19, NL19 с 10% лигноцеллюлозой, MM, MM с 10% лигноцеллюлозой, полифепан, сухую лигноцеллюлозу. Идентификацию штаммов проводили посредством амплификации гена 16S рНК. Последовательности 50 штаммов были идентифицированы, как микроорганизмы, принадлежащие роду *Streptomyces* sp.

В ходе работы проведен анализ способности штаммов *Streptomyces* sp. к росту на средах, содержащих гидролизный лигнин. Показано, что не менее половины выделенных штаммов способны к росту на сухой лигноцеллюлозе и не способны к росту на полифепане. Наличие антибиотической активности проводили с применением диско-диффузионного метода. Наиболее эффективными оказались среды для синтеза антимикробных веществ – NL19 и MM. Вместе с тем, слабую ингибирующую активность отмечали для экстрактов штаммов *Streptomyces*, культивируемых на лигнинсодержащей среде. Примечательно, что такие тест-культуры, как *P. putida*, *S. cerevisiae* подавляются большим числом штаммов, культивируемых на лигнинсодержащем сырье.

Оценка биотехнологического потенциала проведена с помощью современных подходов хроматографии и хромато-масс-спектрометрии низкого разрешения. Для штамма *Streptomyces* sp. LPB22-31A показал синтез 14 низкомолекулярных природных соединений, синтезируемых микроорганизмом при культивировании на гидролизном лигнине.

Так, показано, что выделенные в ходе исследования штаммы способны использовать лигнин-содержащие субстраты в качестве источника питания. При этом, они способны синтезировать различные биологически активные метаболиты. Дальнейшее изучение таких соединений обладает не только научной, но и практической значимостью, в т.ч. в качестве их дальнейшего использования для фармацевтической промышленности.

Грант Минобрнауки РФ в рамках создания лабораторий (проект FZZE-2021-0013, МНОЦ Байкал).

Генетические технологии в исследовании генетического и метаболического потенциала морских бактерий и их сообществ

Исаева М.П.

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

Мировой океан покрывает более 70% поверхности Земли. На его долю как среды обитания живых организмов приходится до 99% от всей биосферы Земли. Морские прокариоты и вирусы составляют преобладающее большинство морской биоты, где предполагаемое количество видов может составлять до $3,0 \times 10^{27}$. Существование бактерий в экстремальных условиях обитания создает предпосылки для развития генетических адаптационных способностей и функционирования морских микробных сообществ. Современные знания о морских бактериях в значительной степени базируются на комплексных исследованиях, включая геномное секвенирование культивируемых бактерий, метагеномное профилирование и функциональную характеристику некультивируемого микробного разнообразия. В докладе будут освещены проблемы применения генетических технологий для описания новых таксонов и микробных сообществ, выяснения генетического и метаболического потенциала и создания на основе морских бактерий продуцентов биотехнологически ценных соединений. Особое внимание будет уделено результатам геномных исследований биоресурсной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН.

Оценка эффективности инокуляции проростков люцерны хмелевидной грибами арбускулярной микоризы и ассоциативными фосфатмобилизующими бактериями по показателям продуктивности растения

*Калинина Т.В. *, Железняков С.В., Попова Т.А., Лактионов Ю.В., Якоби Л.М.*

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

Фосфор (P) - один из ключевых элементов в жизнедеятельности растений. Растения поглощают P в виде анионов ортофосфорной кислоты из почвенного раствора; однако, из-за ретроградации фосфорных соединений почвы и удобрений доступность P для растений ограничена. Почвенные микроорганизмы, такие как грибы арбускулярной микоризы (АМГ) и фосфатмобилизующие бактерии, могут способствовать снабжению растений P. Целью исследования был отбор активных штаммов и композиций микроорганизмов для использования в качестве

потенциальных компонентов биопрепаратов. В условиях вегетационного опыта на почве со средним уровнем доступного для питания растений Р было изучено влияние моно- (бактерия, гриб) и двойной (бактерия + гриб) инокуляции проростков люцерны хмелевидной штаммами бактерий (*Agrobacterium radiobacter* 10, *Pseudomonas chlororaphis* ПГ7) и АМГ (*Rhizophagus* sp., *R. diaphanus*, *Glomus ambisporum*, *R. irregularis*, *Funneliformis mosseae*) на рост и продуктивность растений (урожай сена, содержание общего Р и белкового азота в сене). *A. radiobacter* шт. 10 был выделен из ризосферы пшеницы, выращенной на черноземе (г. Краснодар); способен фиксировать атмосферный азот на безазотистой среде Виноградского; идентифицирован по определителю Берджи (Павлова с соавт., 1992). Принадлежность штамма к роду *Agrobacterium* подтверждена результатами секвенирования гена 16S рНК. Штамм обладает фосфатмобилизующей способностью: проявляет фитазную активность при культивировании на среде с единственным источником углерода – фитатом натрия (Железняков с соавт., 2022). *P. chlororaphis* шт. ПГ7 был выделен из ризосферы подсолнечника, выращенного на черноземе (г. Кировоград); идентифицирован до рода по определителю Берджи. Видовая принадлежность штамма была установлена по результатам секвенирования гена 16S рНК. Штамм ПГ7 обладает фосфатмобилизующей способностью: при культивировании на искусственных питательных средах, содержащих глюкозу, солиобилизирует неорганические труднорастворимые фосфаты кальция (Железняков с соавт., 2022). Штаммы АМГ – облигатные симбиотрофы, были выделены из образцов корней и почв путем внесения под проростки плектрантуса южного, согласно рекомендациям Boudarga & Dexheimer (1990). Идентификация грибов проведена по определителю Schenk & Perez (1988). Видовая принадлежность штамма *R. irregularis* (RCAM00320) была подтверждена результатами молекулярно-генетических исследований. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о существенных различиях между штаммами АМГ по влиянию на рост и продуктивность растения. Показано также, что в отсутствие образования микоризы инокуляция проростков штаммами бактерий не влияла на рост и продуктивность растений, тогда как отдельные композиции бактерий с грибами были высокоэффективны. Полученные результаты свидетельствуют о хозяйственной ценности отдельных штаммов АМГ и их композиций с фосфатмобилизующими бактериями для люцерны хмелевидной; однако необходимо решить вопрос об их эффективности в отношении других видов растений.

Получение направленной делеции с помощью системы CRISPR/Cas9 в гене *SACOL1927* у *Staphylococcus aureus* и ее фенотипический анализ

Кандина Д.А.^{1,2}, Сопова Ю.В.^{1,3}, Велижанина М.Е.¹, Гостев В.В.^{4,5}, Сидоренко С.В.⁴

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

² Ленинградский государственный университет имени А.С. Пушкина, Санкт-Петербург, Россия

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

⁴ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

⁵ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Ванкомицин является важнейшим препаратом для лечения инфекционных заболеваний, вызванных MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), но формирование резистентности к этому антибиотику ограничивает его использование. Устойчивость к ванкомицину в основном связана с мутациями в генах, ответственных за биосинтез клеточной стенки. Ранее при селекции ванкомицин-устойчивых производных штамма RN4220 *S. aureus* были выявлены нонсенс-мутации в гене *SACOL1927* (*yfhP*), кодирующем гипотетическую мембрано-ассоциированную гидролазу SAV1869, роль которой в формировании устойчивости к ванкомицину не была исследована.

Цель. Получение направленной делеции со сдвигом рамки считывания в гене *SACOL1927*, кодирующем белок SAV1869, у *S. aureus*, анализ ее влияния на фенотип и чувствительность к ванкомицину.

Материалы и методы. Делецию в гене *SACOL1927* (*yfhP*) в лабораторный штамм RN4220 *S. aureus* вводили с использованием метода, описанного в работе (Penewit et al., 2018). Была использована двухвекторная система, первый вектор pCN-EF2132tet нес ген рекомбиназы EF2132 *Enterococcus faecalis*, второй вектор pCas9counter-sav – последовательность направляющей РНК (sgRNA) с подобранным нами спейсером к гену *yfhP* и нуклеазу Cas9 *Streptococcus pyogenes*. Штамм *S. aureus* RN4220 трансформировали вектором pCN-EF2132tet для получения рекомбинирующих компетентных клеток, затем вводили донорный олигонуклеотид (90 п.н.), модифицированный фосфотиоатом с 5'-конца, вместе с вектором контрселекции pCas9counter-sav.

Результаты. После проведения последовательных трансформаций плазмидами pCN-EF2132tet и pCAS9counter-sav нами был получен штамм *S. aureus* с целевой делецией (146 п.н.) в гене *yfhP*. Верификацию наличия делеции проводили с помощью ПЦР и последующего секвенирования. Делеция, находящаяся в начале гена, приводила к сдвигу рамки считывания и возникновению стоп-кодона (V11Stop). В ходе

фенотипической проверки штамма с мутацией не было выявлено никаких изменений по сравнению с исходным штаммом, в том числе по чувствительности к ванкомицину.

Выводы. Мы провели генетическое редактирование штамма RN4220 *S. aureus* с помощью двухвекторной системы (вектор с геном рекомбиназы и вектор с геном нуклеазы Cas9 совместно с направляющей РНК для контрселекции), и показали, что данный метод подходит для получения направленных делеций. Полученная нами делеция со сдвигом рамки считывания в гене *yfhP* не влияет на фенотип и чувствительность к ванкомицину у *S. aureus*.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта СПбГУ PURE ID 94030690.

Источники:

- Penewit K, Holmes EA, McLean K, Ren M, Waalkes A, Salipante SJ. Efficient and Scalable Precision Genome Editing in Staphylococcus aureus through Conditional Recombineering and CRISPR/Cas9-Mediated Counterselection. mBio. 2018 Feb 20;9(1):e00067-18. doi: 10.1128/mBio.00067-18.

Новые сульфидогены из кишечника животных и человека участвуют в связывании железа и меди в бионедоступные сульфиды

Карначук О.В.^{1}, Иккерт О.П.¹, Панова И.А.¹, Русанов И.И.², Равин Н.В.²*

¹ Кафедра физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики, ТГУ, Томск

² ФИЦ «Биотехнологии» РАН, Москва

Биогенные сульфиды железа, включая пирит (FeS_2), служат геохимическими маркерами активности сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) в природных биотопах. СРБ и другие сульфидогены также являются известными обитателями кишечника человека и животных. Взаимодействию железа и других металлов в кишечнике с биогенным сероводородом до сих пор уделяли мало внимания. Осаждение металлов в бионедоступные кристаллические сульфиды может приводить к их дефициту в организме. Ранее мы обнаружили нерастворимый кристаллический сульфид железа-меди, халькопирит (CuFeS_2), в образцах фекалий сельскохозяйственных животных. Настоящее сообщение обобщает результаты широкомасштабного исследования присутствия нерастворимых сульфидов железа-меди в кишечнике животных, определения скорости образования сероводорода сульфидогенами в кишечнике, параллельного профилирования сообщества бактерий по гену 16S рРНК и выделения чистых культур СРБ для проверки гипотезы образования халькопирита.

Сульфиды меди-железа обнаружили в пробах фекалий сельскохозяйственных и диких животных и компосте. Всего было проанализировано 124 образца фекалий.

Наибольшее количество образцов, содержащих кристаллические сульфиды меди-железа, халькопирит (CuFeS_2) и вилламанинит ($(\text{CuFe})\text{S}_2$), зарегистрировано у верблюдов (около 80% проб). Бактерии образовывали достаточное количество сероводорода для связывания металлов, измеренная скорость сульфатредукции в фекалиях животных достигала заметных величин и варьировала в пределах от 0.018 до 0.168 нмол S см⁻³ сут⁻¹. Присутствие СРБ в фекалиях подтверждено профилированием сообщества по гену 16S рНК. Порядки Desulfotomaculales (Bacillota) и Desulfovibrionales (Desulfobacterota) оба составляли около 0.3% последовательностей гена 16S рНК. Большинство последовательностей, относящихся к Desulfovibrionaceae, относились к родам '*Mailhella*' (0.23%) и *Desulfovibrio* (0.09%). Сульфидогенные представители Desulfovibrionaceae выделены в чистую культуру, которая образовывала халькопирит в модельных экспериментах. Также получены чистые культуры сульфидогенов, относящихся к Desulfotomaculales и представляющие два новых рода. Проведена серия экспериментов с чистыми культурами СРБ, выделенными из животных и человека. Культуры образовывали халькопирит (CuFeS_2) наряду с ковеллитом (CuS). Наши результаты свидетельствуют об активности СРБ в кишечнике животных и человека, что может приводить не только к дефициту железа, но и меди.

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

Первые генетические данные и анализ нового для морей России вида диатомовых водорослей рода *Thalassiosira* (Bacillariophyceae, Thalassiosirales)

Качур Д.И.^{1*}, Шульгина М.А.^{1,2}, Туранов С.В.^{1,3}, Шевченко О.Г.^{1,2,3}

¹ Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, г. Владивосток

² Филиал Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН «Приморский океанариум», г. Владивосток

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет", г. Владивосток

Виды рода *Thalassiosira* являются одними из самых массовых среди морских диатомовых водорослей умеренной зоны мирового океана. В морях России род *Thalassiosira* представлен повсеместно, и совместно с другими представителями порядка Thalassiosirales составляет основную биомассу и численность фитопланктона, а также может вызывать «цветение» прибрежных вод. В последнее десятилетие часто публикуются работы зарубежных исследователей по молекулярно-генетическому анализу представителей данного рода, описываются особенности их изменчивости, обновляются данные о видовом составе на локальном уровне. В то же время данные о видовом составе рода *Thalassiosira* для морей России крайне отрывочны из-за сложности их идентификации и малого количества специалистов, работающих с ними.

В данной работе при помощи молекулярно-генетических методов был проведен анализ нового для российских морей вида *Thalassiosira*. Для этого были использованы клоновые культуры рассматриваемого рода, отобранные из планктонных и бентосных проб в бух. Житкова (о. Русский, Японское море) в 2020 году. Впервые проведено генотипирование данного вида по участкам 18S и 28S рДНК и определено его положение в структуре рода *Thalassiosira*. Для сбора матрицы нуклеотидных последовательностей и построения филогенетических деревьев были привлечены образцы *Thalassiosira* из генного банка. Молекулярно-генетический анализ по 18S рДНК показал, что рассматриваемый вид имеет высокие значения дивергенции и значительно отличается от остальных видов *Thalassiosira*, он располагается между видами *Thalassiosira guillardii* и *Thalassiosira weissflogii*, формируя с ними единый кластер. При молекулярно-генетическом анализе по 28S рДНК исследуемый вид не имел значительных отличий от вида *Thalassiosira guillardii* и образовывал с ним общую кладу. Он также формировал единый кластер с видами *Thalassiosira guillardii* и *Thalassiosira weissflogii*. Опираясь на полученные данные филогенетического анализа, мы можем отметить присутствие нового для российских морей вида, но для определения его точной принадлежности требуется более полный морфологический и филогенетический анализ.

Особенности симбиотического взаимодействия между *Pisum sativum* и *Rhizobium laguerreae* – «новым» симбионтом гороха

Киричек Е.А.*, Цыганова А.В., Цыганов В.Е.

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

Филогенетический анализ последовательностей геномов бактерий, относимых к *Rhizobium leguminosarum*, показал, что данный вид включает комплекс из 18 геновидов, пять из которых представляют отдельные «новые» виды: *R. laguerreae*, *R. sophorae*, *R. ruizarguesonis*, "*R. indicum*" и собственно *R. leguminosarum*. Недавно в Северо-Западной Испании из клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum*) были выделены штаммы *R. laguerreae*, формирующие эффективные клубеньки на растениях сорта Rondo [1]. В настоящем исследовании было изучено взаимодействие 6 штаммов *R. laguerreae*.

При выращивании растений в контролируемых условиях [2] при температуре 21°C, крупные розовые клубеньки формировались только штаммом AMPS05. На ультраструктурном уровне в клубеньках отмечено отсутствие экзополисахаридной капсулы у бактерий внутри инфекционных нитей и наличие мелких электронно-плотных включений в матриксе бактерий, которые иногда сохранялись и у бактериоидов. Штаммы AMPS17 и AMPS34 формировали клубеньки, визуально похожие на клубеньки дикого типа, однако гистологический и ультраструктурный анализ показали нарушения протекания процессов колонизации. В клетках отмечали накопление крахмала, присутствие мультибактероидных симбиосом и большого количества мелких вакуолей – свидетельства неэффективности клубеньков. Клубеньки, сформированные штаммами AMPS04, AMPS22 и AMPS23, были округлыми белыми или удлинёнными бледно-розовыми. На уровне гистологии и ультраструктуры проявлялись явные признаки нарушения процесса инфекции, наблюдали появление множественных пероксисом и быструю деградацию бактериоидов в инфицированных клетках.

Последующие эксперименты с выращиванием растений при температуре 26°C в условиях, соответствующих протоколу Университета Саламанки (Испания) [1], показали изменения симбиотического фенотипа для некоторых исследуемых штаммов. Так клубеньки, сформированные штаммами AMPS05 и AMPS34, характеризовались типичной гистологической структурой и зональностью, но к четырем неделям содержали выраженную зону старения. В клубеньках, образованных штаммом AMPS17, были отмечены признаки неэффективности, такие как накопление гранул крахмала, однако цитоплазма инфицированных клеток не была вакуолизирована, как в случае выращивания при более низкой температуре. Штамм AMPS22 образовывал вытянутые розовые клубеньки с тремя гистологическими зонами без признаков дегградации симбиотических структур.

Таким образом, было показано, что в селекции штаммов клубеньковых бактерий необходимо учитывать эколого-географические аспекты. Ризобии, адаптированные к

обитанию в условиях одного географического региона, могут оказаться неэффективными в других географических районах.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-16-00090.

ЛИТЕРАТУРА:

[1] Flores-Félix J.D. et al., *Plants*, 2020. 9(12):1755.

[2] Kitaeva A.V. et al., *New Phytologist*, 2016. 210(1):168–183.

Мицелиальные грибы, ассоциированные с дальневосточным трепангом *Apostichopus japonicus* (Holothurioidea, Echinodermata)

Киричук Н.Н.¹, Худякова Ю.В.¹, Чаусова В.Е.^{1}, Павлюк А.Е.², Куриленко В.В.¹, Пивкин М.В.¹*

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

² Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Микромицеты активно участвуют в жизни морских сообществ в качестве сапротрофов, паразитов и симбионтов морских растений и животных. В зависимости от условий они могут быть причиной первичных и вторичных инфекций гидробионтов и наносить существенный урон экосистеме.

Грибы морских животных мало изучены. Тем не менее, известны случаи заболеваний, вызванных факультативными морскими грибами, например, заболевания мягких кораллов, лобстеров, случаи поражения почек и плавательного пузыря у красных люцианов. Особый интерес с научной точки зрения представляют микромицеты голотурий, которые, вероятно, формируют уникальные комплексы. Известно, что голотурии содержат тритерпеновые гликозиды, обладающие фунгицидной активностью. Несмотря на это, было показано, что мицелиальные грибы присутствуют во всех органах голотурий. Более того, выделенные с поверхности голотурии штаммы грибов проявляли более высокую устойчивость к гликозидам, по сравнению с грибами, выделенными из других мест обитания.

Для сравнительного анализа видового состава микромицетов, ассоциированных с трепангом *Apostichopus japonicus*, было выделено около 200 штаммов мицелиальных грибов из трепанга (кишечник и его содержимое, спинные папиллы), собранного в летний период, а также из грунта, отобранного в местах его обитания. Идентификацию и определение таксономического положения полученных изолятов грибов проводили на основе морфологических признаков и филогенетического анализа последовательностей генов: внутреннего транскрибируемого региона (ITS), β -тубулина (BenA) и кальмодулина (CaM). Предварительный анализ видового состава показал

преобладание в грунте и кишечнике трепанга представителей рода *Penicillium*, также, часто встречались виды *Trichoderma* spp., в меньшей степени виды рода *Aspergillus*. И в грунте, и в кишечнике трепанга были также обнаружены представители *Zygomycota*. Вид *Penicillium oxalicum* был выделен из грунта, из кишечника, а также из спинных папилл (выростов) трепанга. Из окружающего грунта, кроме вышеупомянутых, были выделены грибы рода *Fusarium*, однако в кишечнике представители этого рода не обнаружены. Некоторые виды, напротив, присутствовали в кишечнике трепанга, тогда как в изученных образцах грунта отсутствовали (*Purpureocillium lilacinum*, *Acrodontium* sp., *Geotrichum candidum*, *Arthrinium* sp.). Известно, что микроорганизмы являются важными компонентами пищи трепанга и источниками органического углерода в грунте. Однако в отношении грибов изучение их пищевой ценности для трепанга не проводилось. Учитывая присутствие мицелиальных грибов во всех органах трепанга, неизвестна их роль в его жизнедеятельности, а также уровень взаимоотношений макроорганизма с микромицетами. Некоторые виды, выделенные из целомической жидкости трепанга, обладали высокой протеолитической активностью, что делает их потенциально патогенными для трепанга.

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

Геномный анализ штаммов-эндофитов рода *Bacillus*: поиск генов, участвующих в осуществлении антифунгальной активности и взаимодействии с растением

Коренская А.,^{1,3*} Ven С.,⁴ Gentsbittel L.,⁴ Лашин С.,^{1,2,3} Клименко А.^{1,2}

¹ Курчатковский Геномный Центр, Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский Национальный Исследовательский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

⁴ Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

В данной работе анализировались геномы изолятов, выделенных из тканей *Solanum lycopersicum*, ингибирующих рост гриба *Botrytis cinerea*, вызывающего серую гниль томата. Из полученных ранее библиотек геномов этих штаммов, размещенных в NCBI по идентификатору PRJNA761700, были взяты три штамма рода *Bacillus* (DHT2, H1F1, H2F12), для которых имеются метаболомные данные, данные о ферментативной активности, и экспериментальное подтверждение антифунгальной активности (Chaouachi et al. 2021).

Для поиска генов, потенциально участвующих во взаимодействии с растением и его микрофлорой, были, с одной стороны, проанализированы метаболические пути, с другой стороны, кластера генов биосинтеза. Метаболические пути предсказывались при помощи инструмента MinPath на основе классификации ферментов, полученной при аннотации prokka. Путем анализа 1149 полных геномов рода *Bacillus* были выделены метаболические пути, общие для подавляющего большинства геномов рода *Bacillus*. Далее анализировались те пути, которые были предсказаны для всех трех *Bacillus* с антифунгальной активностью, и при этом не были отмечены как общие для большинства бактерий рода *Bacillus*. Анализ кластеров генов биосинтеза выполнялся инструментом AntiSMASH, общие для анализируемых геномов кластера обнаруживались при помощи BiG-SCAPE. Для предсказанных кластеров дополнительно проводился анализ присутствующих в них метаболических путей.

В результате в анализируемых штаммах были обнаружены кластера генов биосинтеза бациллобактина и соответствующие метаболические пути. Бациллобактин это метаболит, относящийся к сидерофорам, обеспечивающий связывание железа. Показано, что, снижая количество доступного железа в среде, это может делать среду менее благоприятной для других, в том числе фитопатогенных, организмов. Также во всех трех геномах найдены кластеры синтеза фенгицина, для которого ранее была подтверждена антифунгальная активность. В штаммах H1F1 и H2F12 найдено также большое количество кластеров синтеза антимикробных метаболитов: бацилизин и макролактин Н, оказывающие антибактериальный и антифунгальный эффект; бациллаен, диффицидин и сурфактин с антибактериальным эффектом. Известно, что сурфактин также способствует индукции системной устойчивости растения. Также в трех геномах обнаружены ферменты, вероятно, ответственные за разложение хитина, а в геномах H1F1 и H2F12, потенциальные гены амилаз. Данные находки соответствуют ранее полученным данным о ферментативной активности. Кроме того, во всех трех геномах предсказаны метаболические пути, связанные с инактивацией гормонов роста растения.

Таким образом, с одной стороны, в геномах штаммов эндофитов обнаружены гены, потенциально оказывающие негативное влияние на рост растения. Однако, при этом они также содержат гены синтеза ряда метаболитов с антифунгальной и антибактериальной активностью и антифунгальные ферменты, что должно способствовать вытеснению более вредоносных для растения микроорганизмов, в том числе *Botrytis cinerea*.

Изучение циркуляции патогенов среди диких парнокопытных животных Московской области

Красникова М.С.^{1*}, Яцентюк С.П.^{1,2}, Долинская К.Г.¹, Пчельников А.В.^{1,2}

¹ ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), 123022, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, 109472, Москва, Россия

В последние годы в научном сообществе прослеживается повышенный интерес к изучению распространения патогенов, включая возбудителей инфекционных болезней крупного рогатого скота (КРС), в популяции диких парнокопытных животных. Интерес этот связан с возможной ролью таких животных как резервуара инфекций, потенциально опасных для сельскохозяйственных животных и человека.

Целью данной работы было получение информации о распространенности инфекционных агентов в популяции диких парнокопытных животных Московской области. В исследование были включены аденовирусы, герпесвирусы КРС (BHV) разных типов (1-6), вирус гепатита E, кобувирусы, коронавирусы, вирус лейкоза КРС, вирус парагриппа КРС 3 типа (ПГ-3), пестивирусы, респираторно-синцитиальный вирус КРС (РСИ), ротавирусы, а также *Mycoplasma bovis*.

Биологический материал от 55 животных: лосей, косуль и благородных оленей, отстрелянных в рамках любительской охоты в осенне-зимнем сезоне 2022-2023 гг в Московской области, исследовали методом ПЦР.

Нуклеиновые кислоты из 154 проб органов и 24 смывов со слизистой животных выделяли с помощью наборов «РибоПреп» (АмплиСенс, Россия) и QIAamp Viral RNA Kit (Qiagen, Германия). Для выявления генетического материала герпесвирусов КРС 1 и 4 типов, ротавирусов, вирусов ПГ-3, лейкоза КРС, *M. bovis* использовали диагностические ПЦР-наборы производства «АмплиСенс», «ВетФактор» и «Applied Biosystems». Присутствие генетического материала герпесвирусов КРС 2, 3, 5 и 6 типов, пестивирусов, аденовирусов, кобувирусов, коронавирусов, вирусов гепатита E, РСИ оценивали с помощью собственных методик на основе классической ПЦР и ПЦР в режиме «реального времени».

В результате скрининговых исследований ДНК BHV 1 типа была выявлена в материале четырех лосей и трех косуль, отстрелянных в пяти разных районах Московской области. Также обнаружили: РНК пестивирусов (1 лось), ДНК *Mycoplasma bovis* (2 лося), РНК ротавирусов группы А (1 лось).

Фрагменты генома BHV 2, 3, 4, 5 и 6 типов, коронавирусов, кобувирусов, вирусов ПГ-3, РСИ, лейкоза и гепатита E в образцах животных выявлены не были. При этом в материале от четырех лосей и одного благородного оленя были выявлены фрагменты ДНК *Mastadenovirus*, обнаруженного впервые в 2022 году в материале от косули.

Данный вирус, названный Roe deer adenovirus 1 входит в группу, объединяющую аденовирусы КРС 3 типа, *Deer mastadenovirus B* и Reindeer adenovirus 1, однако значительно отличается от каждого из этих вирусов и, вероятно, вызывает у животных легкое течение респираторной болезни.

Полученные данные подтверждают информацию о циркуляции патогенов, общих для диких и домашних копытных, в популяции Оленьих Московской области. Изучение распространения патогенов среди диких животных – необходимый и важный компонент мер по контролю рисков возникновения массовых заболеваний животных и защите населения от новых инфекций.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-26-00093, <https://rscf.ru/project/22-26-00093/>.

Морская микробиология: история и современное состояние

Куриленко В.В. , Романенко Л.А., Недашковская О.И., Михайлов В.В.*

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

Морская микробиология является молодой, но сложившейся наукой со своей методологией и объектами исследований. Морские микроорганизмы существенно отличаются от наземных и синтезируют различные биологически активные вещества. Исследования в области морской микробиологии ведутся в Федеральном государственном бюджетном учреждении наук Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г. Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) около 40 лет. Эти исследования всегда были объединены единой тематикой: изучением фундаментальных биологических свойств и вытекающего из них экологического и биотехнологического потенциала морских микроорганизмов. В течение этого времени основной базой для академических и прикладных работ послужила основанная в 1985 г. Коллекция морских микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН, которая является единственной в России, целиком специализирующейся на морских гетеротрофных бактериях и грибах-микромикетах. Подходы, основанные на принципе «биоразнообразие-экология-биотехнология», позволили обнаружить ряд продуцентов необычных биоактивных соединений. В докладе будут представлена история развития морской микробиологии и современное состояние исследований морской микробиоты в России и зарубежом.

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

Сравнительный анализ разнообразия ризосферного микробиома пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и ее близкородственного вида пырея ползучего (*Elymus repens*)

Курынцева П.А., Галиева Г.Ш., Селивановская С.Ю.

Институт экологии и природопользования, ФГАОУ ВО "КФУ"

Микробные сообщества, связанные с ризосферой растений, играют важную роль в секвестрации углерода, регулировании круговорота питательных веществ и эффективном функционировании экосистемы в целом. Разнообразие микроорганизмов, населяющих ризосферу растений, и их сложные взаимодействия с растением-хозяином существенно влияют на морфологию, физиологию, рост, развитие и здоровье растений. При этом известно, что на разнообразие почвенного микробиома влияют тип почв, вид возделываемой культуры, способ обработки почвы. В данном исследовании было оценено разнообразие бактерий ризобиома пшеницы яровой и ее близкородственного вида – пырея ползучего. Пробы ризосферной почвы были отобраны в течение лета 2022 на полях с разными типами почв (дерново-подзолистая, серая лесная, чернозем, средне-подзолистая, коричнево-серые слабоподзолистые) в республике Татарстан (Россия). Далее была проведена экстракция тотальной ДНК и секвенирование бактериального микробиома на платформе Illumina. Согласно данным секвенирования в ризобиоме пырея присутствуют 1241 штаммов бактерий, относящихся к 349 семействам, в ризобиоме пшеницы – 948 штаммов бактерий, относящихся к 301 семейству. К доминантным семействам ризосферного микробиома, присутствующим во всех образцах как пырея, так и пшеницы относятся Xanthobacteraceae, Nocardioidaceae, Micrococcaceae, Geodermatophilaceae, Beijerinckiaceae, Intrasporangiaceae, Spingomonadaceae, Chthoniobacteraceae, Comamonadaceae, Solirubrobacteraceae, Chitinophagaceae, Vicinamibacteraceae, Pirellulaceae. Исключение составляет только семейство Streptomycetaceae, которое относится к доминантным только у пшеницы. Показано, что на состав ризосферного микробиома в меньшей степени влиял тип почвы, в большей степени вид растений. Установлено, что 509 видов встречались только в образцах ризосферного микробиома пырея, 209 – только в образцах пшеницы и 739 видов встречались в ризобиомах обоих растений. Полученные данные лягут в основу разработки комплексного биопрепарата для увеличения урожайности пшеницы и плодородия почв за счет поддержания микробного разнообразия почв.

Влияние экстрактов из бурых водорослей и лишайника на микробиом SCOBY и свойства комбучи

Лапина И.М.^{1,2*}, Головкина Д.А.^{1,2}, Журишкина Е.В.^{1,2}, Комиссаров А.Е.¹, Ермилов Ф.К.¹, Барсегян А.М.¹, Кульминская А.А.^{1,2}

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

² Курчатовский геномный центр – ПИЯФ, Гатчина, Россия

Освежающий напиток «комбуча» является конечным результатом ферментации чая путем добавления закваски SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) в свежеприготовленный чайный отвар и последующего инкубирования в течение нескольких суток. Характерный микробиом чайного гриба включает дрожжи и уксуснокислые бактерии, взаимодействующие посредством совместного метаболизма. Вкус, химический состав и свойства ферментированного напитка зависят от микробиоты, однако, факторы, определяющие рост и активность консорциумов чайного гриба, включают субстрат, используемые источники углерода и параметры ферментации.

Альтернативное сырье для ферментации и разнообразные добавки к чаю используют для получения ассортимента напитков на основе комбучи, а также же для придания им дополнительных полезных свойств. Экстракты из бурых водорослей и лишайников обладают иммуномодулирующей, антимикробной и противовоспалительной активностью, поэтому считаются перспективными компонентами для функциональных продуктов питания. При использовании новых материалов для ферментации чайного гриба вводятся новые химические соединения, активность которых в отношении SCOBY до конца не известна. Данные исследований по селекции штаммов микроорганизмов, присутствующих в SCOBY, и их адаптации к среде, обогащенной другими материалами, кроме чаев, ограничены.

Целью работы было изучить, как добавление экстракта бурых водорослей *Fucus vesiculosus*, экстракта лишайника *Cetraria islandica* а также их смеси в состав ферментируемого чая будет влиять на микробиологические и биохимические свойства комбучи.

Образцы комбучи были приготовлены путем ферментации культуры SCOBY на отваре зеленого чая с добавлением экстракта водорослей, экстракта лишайника и их смеси. В качестве контроля был приготовлен напиток без растительных добавок. После 11 дней ферментации, помимо дрожжей *Brettanomyces bruxellensis* и бактерий *Komagataeibacter rhaeticus* и *Komagataeibacter hansenii*, содержащихся во всех образцах, в образцах с растительными экстрактами были обнаружены дрожжи *Zygosaccharomyces bailii* и бактерии *Komagataeibacter cocolis*. Во всех комбучах с растительными добавками общая доля дрожжей была снижена по сравнению с контролем. Общее содержание полифенолов и антиоксидантная активность напитков с добавлением растительных экстрактов и без них были сопоставимы. Комбуча, приготовленная с экстрактом водорослей, показала повышенное содержание

сахарозы и органических кислот, тогда как содержание фруктозы и глюкозы в образцах с водорослями и смеси экстрактов было ниже, чем в остальных образцах. Образцы с экстрактом водорослей имели самые высокие органолептические показатели «аромат», «прозрачность» и «кислотность», тогда как контрольные образцы имели несколько более высокие показатели «вкус» и «послевкусие».

Результаты этого исследования указывают на потенциал экстрактов водорослей и лишайников в качестве функциональных добавок для получения безалкогольных напитков брожения с дополнительной нутрицевтической ценностью.

Характеристика геномов облигатных анаэробов рода *Alistipes* в микробиоте кишечника пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и здоровых добровольцев

Маркелова М.И.^{1}, Синягина М.Н.¹, Исмаилова Р.К.¹, Данилова Н.А.¹, Одинцова А.Х.²,
Абдулхаков С.Р.^{1,3}, Абдулхаков Р.А.³, Григорьева Т.В.¹*

¹ *Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия*

² *Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан, Казань, Россия*

³ *Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия*

Род *Alistipes* является представителем филы Bacteroidota и включает в себя неподвижные грам-отрицательные неспорообразующие бактерии. Представителям рода *Alistipes* уделяется значительное внимание в связи с их способностью продуцировать ряд полезных для хозяина метаболитов, таких как короткоцепочечные жирные кислоты и индолы. Известно, что доля *Alistipes* в микробиоте кишечника значительно снижается при заболеваниях желудочно-кишечного тракта (воспалительных и онкологических), сердечно-сосудистой системы и психических расстройствах. Так как данные бактерии являются облигатными анаэробами, их культивирование в лабораторных условиях затруднено, поэтому использование современных методов высокопроизводительного секвенирования метагеномов может позволить оценить генетическое разнообразие представителей рода.

Целью исследования явилась оценка генетического разнообразия и характеристика геномов представителей рода *Alistipes* в микробиоте пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и здоровых добровольцев.

Тотальная ДНК была выделена из кала 38 пациентов с язвенным колитом (ЯК), 36 – с болезнью Крона (БК) и 42 здоровых добровольцев. Метагеномное секвенирование было осуществлено на платформе NextSeq 500 на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования КФУ. Таксономическое профилирование было проведено с помощью программы MetaPhlan4. Метагеномная

сборка, биннинг контигов и оценка качества сборок геномов производились с помощью metaSPAdes v.3.14, maxbin v.2.0 и CheckM v.1.1.

Доля представителей рода *Alistipes* в микробиоте пациентов с БК и ЯК была достоверно снижена по сравнению с контрольной группой ($2.08 \pm 1.22\%$, $0.66 \pm 0.38\%$ и $3.06 \pm 1.03\%$, соответственно, $p < 0.05$). Несмотря на то, что род *Alistipes* занимает относительно небольшую долю в микробиоте кишечника человека, нам удалось получить 13 полных геномов (завершенность сборки $> 90\%$, контаминация $< 5\%$) из микробиоты 11 индивидов (4 с БК, 1 с ЯК и 6 контролей). Интересно, что для 1 здорового добровольца и 1 пациента с БК удалось получить геномы двух видов – *A. onderdonkii* и *A. putredinis*, и *A. onderdonkii* и *A. inops*, соответственно. Наибольшее количество геномов принадлежало виду *A. putredinis* (1 из микробиоты пациента с БК, 1 – с ЯК и 5 от здоровых добровольцев). Средняя длина обнаруженных геномов *A. putredinis* составляет 2.35Mb, доля GC – 54.8%. Для вида *A. onderdonkii* было обнаружено 4 генома (3 от пациентов с БК и 1 от контроля) со средней длиной 3.28 Mb и долей GC – 58.3%. Также были обнаружены геномы *A. inops* в микробиоте пациента с БК (2.51Mb, GC – 55.99%) и *A. shahii* (2.49Mb, GC-60.96%) в микробиоте здорового добровольца.

Таким образом, мы получили сборки 13 полных геномов различных представителей рода *Alistipes*.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет средств субсидии, выделенной КФУ на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (#FZSM-2023-0013).

Изучение пангенома *Salmonella enterica* для расшифровки молекулярных механизмов патогенности и специфичности выбора бактериями организма-хозяина

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

¹ ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии

² Санкт-Петербургский Государственный Университет

Salmonella enterica является патогеном, способным вызывать желудочно-кишечные инфекции у животных и у людей. Несмотря на изученность патогенеза, отсутствует детальное понимание механизмов, ответственных за выбор хозяина. Поэтому мы провели пангеномное исследование *S. enterica*, для выявления потенциальных факторов специфичности. Спектр поражаемых хозяев был получен из базы BioSample. Было выделено четыре группы хозяев: человек, свинья, крупный рогатый скот (КРС) и птицы. Из базы данных NCBI RefSeq было скачено 1600 геномных

сборок *S. enterica*. Сборки были дедуплицированы, в результате чего было выявлено 300 эталонных кластеров.

Инструмент Panaroo был использован для реконструкции пангенома, который включал 2796 коровых и 22888 аксессуарных генов, при этом на U-кривой не наблюдалось внутренних пиков, указывая на генетическое сходство.

Для понимания эволюции пангенома *S. enterica*, было построено филогенетическое дерево с использованием RaXML-NG на основе коровых генов. Филогенетические группы не показали четкой кластеризации на основе поражаемого хозяина.

Для выявления потенциальных детерминант специфичности было проведено полнопангеномное исследование ассоциаций с использованием puseeg. Было выявлено 143 детерминанта специфичности для КРС, 32 для птиц и 61 для свиней. Отсутствие факторов, связанных с человеком, может объясняться присутствием сероваров-генералистов, поражающих множество хозяев.

С поражением птиц связаны эффекторы, потенциально регулирующие ход инфекции, такие как мембранный калиевый канал, ингибитор протеазы FtsH и регулятор транскрипции MgrB, а также факторы устойчивости к антибиотикам. Инфицирование свиней ассоциировано с компонентами оперона *tra*, фланкирующего плазмиду с рецепторами и белками пилей, участвующих в распознавании клеток-хозяев. В сборках, приуроченных к КРС, найдены факторы устойчивости к антибиотикам и система секреции IV типа, обеспечивающая транспорт эффекторов в клетки хозяина.

Функциональные свойства пангенома были изучены с помощью eggNOG-mapper. Согласно категории биологических процессов, сборки, поражающие птиц и свиней обогащены аннотациями, связанными с ответом на стресс. Поражение КРС связано с метаболизмом ДНК, что подтверждается анализом молекулярных функции, подразумевая роль мобильных генетических элементов в передаче факторов вирулентности. Были выявлены различия в локализации детерминант. У сборок, поражающих птиц, к ним относят мембраны и периферию клеток, коров – капсулы и наружные компоненты клеток, свиней - экстраклеточные структуры. Особый интерес представляет устойчивость штаммов к различным антибиотикам, что может быть связано со специфическими антибиотиками на птицефабриках и фермах. Выявленные детерминанты можно разделить на две группы: компоненты инфекции и факторы, отражающие адаптацию к хозяину.

Исследование выполнено при поддержке гранта президента РФ МД-2302.2022.5.

Изменение видового состава кишечного микробиома несушек перепелов при применении пробиотического препарата «Яросил»

Мостофина А.В.

ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, Ярославль, Россия

В настоящее время исследование кишечного микробиома является важным условием для развития птицеводства. Полезные микроорганизмы выполняют защитную функцию, вытесняя патогенные штаммы, регулируют функцию желудочно-кишечного тракта и играют немаловажную роль в поддержании гомеостаза.

За счёт технического прогресса стало возможным изучать широкий спектр микроорганизмов, не прибегая к культивированию их на питательных средах. Таким образом, в работе был использован 16S метагеномный анализ с целью изучения изменения состава микробиома кишечника несушек перепелов при применении пробиотика «Яросил».

Объектом исследования являлись несушки белого тexasского перепела в возрасте 135 суток. Птица опытной группы в дополнение к основному рациону с водой получала пробиотик «Яросил» в дозировке 0,2 мл/кг. Отбор помёта для генетических исследований осуществляли на 7-е и 21-е сутки исследований.

На 7-е сутки в контрольной группе наиболее многочисленными представителями являлись *Enterococcus cecorum* (76,36%), *Ralstonia pickettii* (20,59%), *Streptococcus bovis* (16,62%), *Propionibacterium acnes* (7,82%), *Bifidobacterium saeculare* (7,12%), в опытной – *Ralstonia pickettii* (26,04%), *Enterococcus cecorum* (22,89%), *Negativicoccus succinicivorans* (16,41%), *Lactobacillus aviarius* (10,76%) и *Sporosarcina psychrophila* (9,81%).

На 21-й день исследований в контрольной группе установлено увеличение количества бактерий *Ralstonia pickettii* и *Bifidobacterium saeculare* на 22,94 и 1,61 процентных пункта соответственно, при этом доминирующие позиции стали занимать *Prevotella histicola* (27,19%), *Prevotella albensis* (21,04%), *Escherichia albertii* (14,08%) и *Enterobacter ludwigii* (17,26%).

В опытной группе также произошли изменения: доля вида *Ralstonia pickettii* снизилась на 5,54 процентных пункта, отмечено увеличение количества *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* до 8,76 и 8,29%, соответственно, а также впервые обнаружены *Clostridium cavendishii* (7%) и *Acinetobacter lwoffii* (14,24%).

При этом, на 21-е сутки не были обнаружены ранее занимавшие доминирующие позиции виды микроорганизмов: *Enterococcus cecorum*, *Streptococcus bovis*, *Propionibacterium acnes* в контрольной и *Enterococcus cecorum*, *Negativicoccus succinicivorans*, *Lactobacillus aviarius* и *Sporosarcina psychrophila* в опытных группах.

Штаммы бактерий *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus paracasei* способствуют нормализации пищеварения, улучшению обмена веществ, а также препятствуют размножению патогенной микрофлоры. Увеличение лактобактерий за счёт применения пробиотика «Яросил» позволило снизить количество бактерий вида *Ralstonia pickettii*, которые зачастую вызывают различные функциональные нарушения

у ослабленных животных. Таким образом, установлено положительное влияние пробиотика «Яросил» на микробиом кишечника перепелов.

Генетический анализ штаммов *Sinorhizobium meliloti*, контрастно различавшихся по солеустойчивости

Мунтян В.С.; Румянцева М.Л.*

ФГБНУ ВНИИСХМ

Засоление почв – это процесс накопления в почве более 0,25% от ее массы солей, вредных для растений (в том числе хлорида натрия). В естественных условиях процесс засоления идет достаточно медленно, но существенно усиливается при антропогенном воздействии (орошение, удобрение) и становится настоящим бедствием. Использование таких почв возможно при выращивании кормовых бобовых трав, например, люцерны, имеющей хорошо развитую корневую систему и образующей азотфиксирующий симбиоз с почвенными сапрофитными бактериями. Клубеньковые бактерии, как микросимбионты бобовых, в свою очередь, способствуют повышению устойчивости растений к абиотическим стрессовым факторам, что положительно сказывается на увеличении биологической массы растений. Однако потенциал, заложенный в геномах бактерий-микросимбионтов, используемых при создании растительно-микробных систем на основе современных методов биотехнологии, остается недооцененным.

Ранее нами было показано, что природные изоляты *Sinorhizobium meliloti* из района вторичного засоления, территория центра интрагрессивной гибридизации люцерны, на северо-западе от Аральского моря (район Мугоджар), имели пониженный уровень солеустойчивости относительно уровня характерного для данного вида ризобий (2,5% и 3,5% NaCl, соответственно). Было высказано предположение, что снижение уровня солеустойчивости обусловлено адаптацией к сапрофитному существованию в условиях высокой засоленности почв. Целью данного исследования стало выявление и оценка пула генов, вовлечённых в солеустойчивость у штаммов, контрастно различающихся по данному признаку с использованием техники микроэррей. В результате установлено, что доля генов, имевших изменения в нуклеотидных последовательностях (или отсутствовавшие) в геномах солечувствительных штаммов, составлявших большинство из популяции ПАГ, была в 4 раза выше, чем в геномах солеустойчивых штаммов. Изменения происходили не менее чем в 25 генах, вовлечённых в процессы репликации и репарации ДНК, и метаболизма нуклеотидов (1 группа KEGG), аминокислот (8 групп KEGG), липидов (2 группы KEGG) и углеводов (4 группы KEGG), согласно проведенному анализу. В геномах штаммов солеустойчивого фенотипа изменения имели место в генах, относящихся к 6 KEGG группам и представленным значительно меньшим числом генов.

Таким образом, геномы штаммов ПАГ солечувствительного фенотипа, имеют уникальные генотипические характеристики, которые могут обуславливать те метаболические изменения, которые позволяют ризобиям выживать в указанных условиях засоления и формировать эффективный симбиоз с растением-хозяином. Полученные знания об адаптации бактерий к неблагоприятным воздействиям внешней среды, необходимы для эффективного управления хозяйственно-ценными признаками получаемых на их основе биопрепаратов.

Исследование выполнено в рамках Госзадания № FGEW-2021-0006.

Резистентность фитопатогенных грибов *Microdochium nivale* к фунгицидным препаратам

Мурзагулова Г.Ш. , Гоголева О.А., Мещеров А.Р., Горшков В.Ю.*

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН

Использование химических средств защиты растений от патогенных микроорганизмов приводит к серьезной проблеме – развитию резистентности (приобретенной устойчивости) у фитопатогенов. Химическая защита растений имеет особенно важное значение в отношении тех заболеваний, для которых ограничен набор источников устойчивости в генофондах культурных растений вследствие сложного полигенного наследования признаков устойчивости. Поэтому создание устойчивых к таким заболеваниям сортов – крайне сложный и длительный процесс и контроль этих заболеваний во-многом базируется на применении фунгицидов. К таким заболеваниям относится высоко-вредоносная и широко-распространенная в нашей стране розовая снежная плесень озимых зерновых культур. Это заболевание вызывают холодоустойчивые фитопатогенные грибы вида *Microdochium nivale* в позднезимний – ранневесенний период. Из-за развития снежной плесени под снежным покровом, список фунгицидов, рекомендованных для ее подавления, ограничен, а их применение возможно только в превентивной форме, то есть до формирования снежного покрова. Все это служит дополнительным стимулом для адаптации возбудителей снежной плесени к фунгицидам, что подтверждается снижением эффективности действия препаратов против этого заболевания. Целью нашей работы является анализ распространенности фунгицид-резистентности в популяциях фитопатогенных грибов *Microdochium nivale*. Нами была исследована чувствительность 136 штаммов *M. nivale* из двух популяций к фунгицидам, представленным однокомпонентными препаратами, содержащими действующие вещества из разных химических классов: карбендазим и азоксиistroбин. Только 20-22% штаммов в обоих исследованных популяциях имело полную восприимчивость к азоксиistroбину, а около 80% штаммов сохраняло способность к росту в присутствии

этого фунгицида, хотя и более медленно, чем в отсутствие фунгицида. Это означает, что у 80% штаммов популяций выражена количественная устойчивость к азоксибромину несмотря на то, что этот фунгицид ранее не применялся на исследуемых территориях. К карбендазиму у большей части популяции, у 57% штаммов, была выражена качественная устойчивость. При этом некоторые штаммы были способны использовать этот фунгицид в качестве единственного источника углерода. В одной из популяций доля карбендазим-устойчивых штаммов была намного больше, чем в другой, и это, по всей видимости, связано с тем, что только первая (но не вторая) популяция ранее подвергалась обработке фунгицидом, сходным по структуре с карбендазимом. Взаимосвязи между фунгицид-устойчивостью исследованных штаммов и уровнем их вирулентности или скоростью роста нами не выявлено. Это означает, что адаптация к этим фунгицидам, по всей видимости, не влияет на вирулентности и базовые физиологические параметры.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-16-00086.

Изучение арбускулярных микоризных грибов, ассоциированных с сорными растениями семейства Asteraceae

Нестерова Е.А.; Малыгин Д.М.*

Санкт-Петербургский государственный университет

Семейство Asteraceae одно из самых многочисленных среди двудольных растений. Среди его представителей встречаются трудноискоренимые инвазивные и сорные растения, одной из причин успешного распространения которых является способность оказывать влияние на почвенный микробиом, в том числе за счет симбиоза с арбускулярными микоризными грибами (АМГ) и образования микоризных сетей. АМГ – эндомикоризные грибы, образующие симбиоз с растениями. Их отличительной особенностью является способность проникать в клетки с образованием везикул и арбускул. Исследования *in silico* и *in vitro* показали, что штаммы *R. irregularis* способны образовывать как гомокариотический (то есть с одним доминирующим генотипом), так и гетерокариотический мицелий, происходящий от нескольких штаммов [1].

С целью сравнения микоризации видов семейства Asteraceae, собранных на поле и вне его в условиях Пушкинского района Санкт-Петербурга, изучали три вида растений, а именно: *Solidago canadensis* L. (золотарник канадский), *Erigeron canadensis* (мелколепестник канадский) и *Sonchus arvensis* (осот полевой). Для изучения использовались гистохимические и молекулярные методы. На основе гистохимического анализа (окрашивание и визуализация корней на микроскопе) была выявлена большая представленность грибных структур, характерных для АМГ.

Достоверную разницу в микоризации между растениями, собранными на поле, и растениями, собранными вне поля, показал только мелкопестник канадский. Для него микоризация проходила лучше вне поля.

Молекулярный анализ локуса хитин-синтазы I (праймеры CHS-79F и CHS-1 [2]) показал высокое сродство к последовательностям АМГ, представленным в NCBI. Секвенирование выявило большую представленность гетерокариотичного мицелия, что затрудняет видовую идентификацию грибов.

Таким образом, выявлены различия микоризации АМГ растений семейства Asteraceae, собранных на поле и вне его в условиях Пушкинского района Санкт-Петербурга, а также доказательства того, что в корнях растений мицелий образует гетерокариотические клетки ввиду своей несептированности, что вносит существенный вклад в теоретические знания об особенностях микоризации растений и открывает перспективы для практического применения подобных исследований в борьбе с сорной растительностью.

Секвенирование ДНК-последовательностей по Сэнгеру проводили на базе РЦ "Развитие молекулярных и клеточных технологий" СПбГУ.

Источники и литература

1. Ropars, J., Toro, K., Noel, J. et al., 2016. Evidence for the sexual origin of heterokaryosis in arbuscular mycorrhizal fungi, *Nat Microbiol* 1.
2. Carbone, I., Kohn, L.M. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes // *Mycologia*. V. 91. 553–556.

Порины энтеробактерий формируют амилоиды, секретируемые в везикулы наружной мембраны

Нижников А.А.^{1,2,}, Белоусов М.В.^{1,2}, Сулацкая А.И.³, Косолапова А.О.^{1,2}, Сулацкий М.И.³, Антонец К.С.^{1,2}*

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Лаборатория протеомики надорганизменных систем, 196608, Санкт-Петербург, г. Пушкин, Подбельского ш., д. 3.

² Санкт-Петербургский государственный университет, биологический факультет, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7-9.

³ Институт цитологии РАН, Лаборатория структурной динамики, стабильности и фолдинга белков, 194064, Санкт-Петербург, Тихорецкий проспект, д. 4

Амилоиды – это надмолекулярные белковые комплексы с особой пространственной структурой, получившей название «кросс-бета». Несмотря на более чем двухвековую историю изучения амилоидов как патогенов, сейчас стала очевидной их роль в качестве функционального варианта четвертичной структуры белка. Наибольшее разнообразие амилоидов описано у бактерий, у которых выявлено более

30 амилоидных белков, большинство из которых выполняют функции, связанные с вирулентностью, патогенезом и надорганизменными взаимодействиями. В докладе рассмотрены особенности амилоидогенеза поринов наружной мембраны энтеробактерий *in vitro* и *in vivo*. Обсуждаются возможные пути конформационного перехода «бета-баррель – амилоид», а также проводится анализ недавних результатов, свидетельствующих в пользу наличия механизма секреции поринов в амилоидной конформации в везикулы, образуемых наружной мембраной, и возможной роли этого явления в надорганизменных взаимодействиях «патоген-хозяин».

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

Моделирование трансдукции T4-подобными бактериофагами плазмидной ДНК в бактерию-реципиент *E.coli* в ЖКТ мыши

Никулина А.Н.^{1*}, Павлов В.М.^{2,3}, Федотова А.Ю.^{2,3}, Никулин Н.А.¹, Дъяченко И.А.²,
Мурашев А.Н.², Зимин А.А.¹

¹ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук - обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Пушкино, Россия

² Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, Пушкино, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пушкинский государственный естественно-научный институт, Пушкино, Россия

Некоторые бактериофаги способны к генерализированной (общей) трансдукции – горизонтальному переносу любого генетического материала от одной клетки к другой, будь то часть ДНК самой бактерии, либо плазмидная ДНК. Таким образом, благодаря бактериофагам, бактерии могут приобрести факторы вирулентности или гены устойчивости к антибиотикам, например к ампициллину, если в момент сборки фаговой частицы в нее произошла упаковка плазмидной ДНК с геном бета-лактамазы. Так было показано *in vitro*, что T4-подобные фаги RB42, RB43, RB49 способны трансдуцировать плазмидные и биплазмидные системы с высокой частотой – 10⁻³-10⁻¹⁰.

6 [1]. За счет горизонтального переноса генов посредством трансдукции бактерии могут приобретать возможности для адаптации к изменяющимся условиям среды и заселять новые экологические ниши. Изучение горизонтального переноса генов посредством общей трансдукции в живых системах помогает получить наиболее приближенные к природным процессам сведения об эволюционных событиях с участием фагов и бактерий. Данные об этом процессе будут актуальны и для медицины в контексте разработки фаговых коктейлей и протоколов для лечения бактериальных инфекций при помощи фаговой терапии. В нашем исследовании мы предприняли первые шаги для моделирования подобного явления в живых системах. Нами была смоделирована трансдукция Т4-подобными бактериофагами плазмидной ДНК в бактерию-реципиент *E.coli* в ЖКТ мыши. В первом эксперименте мышам вводили перорально чувствительную к фагу бактерию-реципиент *E.coli* GM1737 с хромосомной устойчивостью к канамицину, спустя 20 минут вводили препарат фага RB43 с плазмидой pUC19. Во втором эксперименте были аналогичным образом введены *E.coli* KLF-47 с хромосомной устойчивостью к тетрациклину и препарат фага RB49 с плазмидой pTurboGFP-B. Спустя 3 часа мышей вскрывали, вырезали кишечник и из его смыва и производили высевы на агаризированные среды с селективными антибиотиками. В результате была успешно проведена *in vivo* трансдукция плазмиды pUC19 фагом RB43 и плазмиды pTurboGFP-B фагом RB49 в бактерии толстого кишечника мышей. Было получено 5 трансдуктантов, устойчивых к канамицину, ампициллину. Было получено 123 трансдуктанта, устойчивых к хлорамфениколу, тетрациклину и ампициллину, пересейанные клоны трансдуктантов имели слабую флуоресценцию. Содержание транспортируемых плазмид в клонах-трансдуктантах полученных в ходе исследования трансдукции Т4-подобными бактериофагами RB43, RB49 в кишечнике мыши было подтверждено наличием устойчивости к антибиотикам, а также выделением плазмид и специфическим ПЦР с праймерами к гену бета-лактамазы.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-00669, <https://rscf.ru/project/22-25-00669>

Литература:

1. Taniashin, V I et al. "Transduktsiia determinant antibiotikorezistentnosti plazmid psevdo-T-chetnymi bakteriofagami" [Transduction of plasmid antibiotic resistance determinants with pseudo-T-even bacteriophages]. Genetika vol. 39,7 (2003): 914-26.

Двенадцать новых видов актинобактерий рода *Rathayibacter* из свежесобранных и гербарных образцов растений

Оспенников Ю.В.^{1*}, Демидов А.В.¹, Дорофеева Л.В.¹, Стародумова И.П.¹, Тарлачков С.В.¹, Присяжная Н.В.¹, Субботин С.А.^{2,3}, Евтушенко Л.И.¹

¹ ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН» (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН), Пущино, Россия

² Department of Entomology and Nematology, University of California, Davis, California, USA

³ California Department of Food and Agriculture, Sacramento, California, USA

Актинобактерии рода *Rathayibacter* известны науке более 130 лет, с момента, когда Эмерих Ратай описал бактериоз ежи сборной (*Dactylis glomerata* L.) и его возбудителя (ныне *R. rathayi*). Долгое время виды *Rathayibacter* относили к роду *Corynebacterium*, а затем к *Clavibacter*. Позже для видов *Clavibacter*, имеющих менахинон МК-10, пептидогликан на основе диаминамасляной кислоты (LL-изомер), рамнозу и маннозу в составе сахаров клеточной стенки, был предложен отдельный род *Rathayibacter* (Zgurskaya et al., 1993). В состав рода вошли фитопатогены, поражающие пшеницу и злаковые травы. *R. toxicus* известен также способностью синтезировать высокотоксичный гликолипид (коринетоксин) в инфицированных растениях, который вызывает неврологические расстройства и гибель травоядных животных. Переносчиками служат нематоды рода *Anguina*.

Несмотря на вековую историю, а также практическую значимость и встречаемость в различных экосистемах, *Rathayibacter* остается одним из наименее изученных родов актинобактерий. В настоящее время род включает только 9 валидно описанных видов. Это обстоятельство во многом обусловлено высоким сходством вновь обнаруживаемых штаммов рода и известных видов по генам 16S рРНК (до 99.7%) и традиционным таксономическим характеристикам, а также ограниченным применением в этой группе современных методов таксономии.

В настоящей работе представлены результаты таксономического изучения бактерий рода *Rathayibacter* с использованием методов сравнительного анализа геномов.

Исследовались свежесобранные и гербарные образцы 11 видов различных травянистых и 5 древесных растений (ива, липа, конский каштан, рябина, яблоня), в том числе, инфицированных нематодами или с признаками поражения паразитическими членистоногими. Образцы растений собраны в период с 1992 по 2020 гг. на территории России (Московская, Белгородская и Волгоградская области), Узбекистана (пустыня Кызылкум) и США (штат Калифорния).

Идентификацию новых изолятов на уровне рода и выявление потенциально новых видов проводили с использованием методов МАЛДИ масс-спектрометрии и анализа генов 16S рРНК. Сравнительный анализ полных геномов изолятов (21 штамм) показал, что они являются представителями 12 новых видов. Значения уровня ДНК-ДНК гибридизации *in silico* (25,8–67,8%) и средней идентичности нуклеотидов (82,6–

96,0%) между изолятами и типовыми штаммами ближайших видов были ниже или в пределах границ разделения видов (70% и 95–96%, соответственно).

Таким образом, получены новые данные о видовом разнообразии, распространении и экологии актинобактерий рода *Rathayibacter*. Показано, в частности, что штаммы одного вида обнаруживаются в тканях разных видов растений, а в составе микробиоты одного и того же растения могут присутствовать несколько (новых) видов. Предложено исправленное и дополненное описание рода. Сформирована и передана в фонд ВКМ коллекция штаммов *Rathayibacter*, включающая, в том числе, представителей новых видов и ассоциантов различных древесных и травянистых растений.

Роль низкомолекулярных фосфонатов пектобактерий в растительно-микробных взаимодействиях

Парфирова О.И.^{1*}, *Петрова О.Е.*¹, *Микшина П.В.*¹, *Сыромятникова Е.Д.*¹,
*Смолобочкин А.В.*², *Горшков В.Ю.*^{1,3}

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

2 Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова ФИЦ КазНЦ РАН,
Казань, Россия

3 Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

Фитопатоген *Pectobacterium atrosepticum* является широко распространённым возбудителем мягкой гнили растений. Однако, несмотря на разрушительный потенциал этих бактерий, взаимодействие пектобактерий с растениями может выражаться не только мягкими гнилями, но и бессимптомными инфекциями, при которых патоген и хозяин мирно сосуществуют. К настоящему времени у пектобактерий среди низкомолекулярных метаболитов, определяющих стратегию взаимодействия патогена с растениями, описана только коронафацевая кислота, которая служит в качестве индуктора жасмонат-регулируемых восприимчивых ответов хозяина.

С помощью транскриптомного анализа мы выяснили, что при колонизации растения-хозяина повышается уровень экспрессии генов пектобактерий, аннотированных как ферменты биосинтеза фосфонатов. Ранее было установлено, что фосфонат пантафос, продуцируемый фитопатогеном *Pantoea ananatis*, обладает гербицидными свойствами и повышает вирулентность патогена; однако для пектобактерий фосфонаты к настоящему времени не были описаны. Поэтому целью данной работы было установить, способны ли фитопатогенные пектобактерии продуцировать фосфонаты, и какую роль играют эти метаболиты в растительно-микробных взаимодействиях.

Чтобы проверить, действительно ли пектобактерии продуцируют низкомолекулярные экстраклеточные фосфонаты, были подобраны условия *in vitro*, которые индуцируют экспрессию генов, связанных с фосфонатами, и проведена экстракция предполагаемых фосфонатов из супернатантов культур пектобактерий. Спектры ³¹P ЯМР для полученных образцов показали сигналы, характерные для фосфонатов. Мутант с делецией гена *fom1*, кодирующего ключевой ген биосинтеза фосфонатов (фосфоенолпируват мутаза), не продуцировал эти метаболиты; но способность к синтезу фосфонатов восстанавливалась у компенсаторного мутантного штамма, несущего целевой ген *fom1* в составе плазмиды. При помощи масс-спектрометрии мы установили базовую структуру синтезируемого пектобактериями фосфоната.

Было установлено, что синтез исследуемого соединения зависит как от присутствия индукторов растительного происхождения, так и от функционирования системы межклеточной коммуникации патогена. Данные две системы, как правило, регулируют продукцию большинства факторов вирулентности пектобактерий, и полученные результаты могли бы свидетельствовать о принадлежности фосфонатов к факторам вирулентности пектобактерий. Однако мы установили, что у фосфонат-дефицитного мутанта пектобактерий повышается вирулентность за счет увеличения активности фермента пектатлиазы, разрушающей пектиновые вещества растительных клеточных стенок.

Таким образом, мы впервые детектировали у пектобактерий фосфонаты и установили, что пектобактерии продуцируют фосфонаты для снижения проявления своего патогенного потенциала с целью продления взаимодействия с растением-хозяином, что имеет большое значение как для растения-хозяина, так и для патогена.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-14-00194.

Анализ CRISPR-Cas систем у природных изолятов *Sinorhizobium meliloti*, выделенных в среднеазиатском генцентре культурных растений

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

ФБГНУ ВНИИСХМ; НЦМУ «Агробιοтехнологии будущего» (2020-2024 гг.), проект 075-15-2022-320 от 20 апреля 2022

В настоящее время системы CRISPR-Cas представляют огромный интерес для исследователей, в связи с возможностью их применения для целевого редактирования геномов эукариот. В геномах клубеньковых бактерий, формирующих необлигатный азотфиксирующий симбиоз с бобовыми растениями-хозяевами данные системы практически не изучены. Клубеньковые бактерии как симбионты бобовых кормовых и зерно-бобовых культур имеют огромное практическое значение, поскольку благодаря такому растительно-микробному взаимодействию происходит фиксация атмосферного азота и перевод его в форму доступную для живых организмов. Однако бактерии достаточно уязвимы к вирусам, обитающим в почве, что может отрицательно сказываться на штаммах, используемых в биотехнологических целях для создания биопрепаратов под бобовые культуры. Задачами данного исследования были поиск и оценка разнообразия потенциальных элементов CRISPR-Cas систем у природных изолятов клубеньковых бактерий люцерны *Sinorhizobium meliloti*, выделенных из различных генцентров культурных растений.

В работе был проведен биоинформатический поиск элементов CRISPR-Cas систем в геномах 95 природных изолятов клубеньковых бактерий вида *S. meliloti*, симбионтов люцерны. Штаммы были выделены из клубеньков дикорастущих растений люцерны (*Medicago* spp.), а также из собранных образцов почв в районах Средней Азии, Приаралья и Туркмении. Был проведен поиск и анализ CRISPR локусов, расположенных на хромосоме, с использованием адаптированного метода ПЦР детекции. Показано, что на хромосоме каждого из 95 изолятов присутствовало 7 CRISPR локусов. Установлено, что наибольшее число изменений было выявлено в размерах амплифицированных последовательностей локусов CR-3 (частота 0,05) и крайне редко – локусов CR-4 и CR-5 (частота 0,006 и 0,005 соответственно). Выявлены достоверные отличия по структуре спейсеров локусов CR-3 и CR-4 между штаммами из Приаралья и Средней Азии ($\chi^2=4.07$, $P<0.05$) и по спейсерам локусов CR-7 и CR-6 между штаммами из Приаралья и Туркмении ($\chi^2=6.42$, $P<0.05$). Полученные результаты указывают на то, что штаммы могут иметь значительные различия по устойчивости к фагам, что может представлять интерес для агробιοтехнологии при создании биопрепаратов на основе штаммов, обладающих заданным иммунным статусом.

Платформа для получения аналогов природных антимикробных пептидов с использованием метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris*

С.О. Пипия^{1*}, Н.З. Мирзоева¹, М.Н. Баранова¹, И.Е. Елисеев¹, Ю.А. Мокрушина^{1,2}, О.В. Шамова³, А.Г. Габитов^{1,2}, И.В. Смирнов^{1,4}, С.С. Терехов^{1,2}

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

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

3 Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург

4 Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

Резистентность к антибиотикам стала одной из глобальных проблем современной медицины. Избыточное использование антибиотиков приводит к возникновению штаммов в том числе с множественной лекарственной устойчивостью. Это приводит к тому, что стандартные методы лечения перестают эффективно действовать, что затрудняет борьбу с инфекционными заболеваниями и увеличивает смертность. Таким образом, проблема резистентности к антибиотикам требует постоянного внимания и развития новых подходов к поиску антибиотиков. Новым вектором в разработке противомикробных препаратов является применение методов широкомасштабного скрининга природного или искусственного разнообразия для поиска активных соединений. Одним из классов антимикробных соединений, которые являются перспективными кандидатами для создания новых антибиотиков, являются антимикробные пептиды (АМП). Они обладают широким спектром антибиотической активности, а также низкой вероятностью индукции резистентности за счет нацеленного на мембраны механизма действия. Генетически кодируемая природа АМП позволяет адаптировать их продукцию в гетерологическом продуценте, а также создавать и скринировать клеточные библиотеки их вариантов. В данной работе метилотрофные дрожжи *Pichia pastoris* были использованы в качестве гетерологического продуцента АМП. Рекомбинантные клоны дрожжей проявляли выраженную антимикробную активность по отношению к бактерии-мишени. На основе первичной аминокислотной последовательности исследуемого пептида была создана клеточная библиотека его аналогов. Методами широкомасштабного скрининга были отобраны клоны, проявлявшие наибольшую активность по отношению к бактерии-мишени. Дальнейший анализ отобранных вариантов показал, что выделенные аналоги АМП демонстрировали более низкий уровень гемолитической активности по сравнению с исходным пептидом. Таким образом, разработанная платформа позволяет проводить широкомасштабные скрининги антимикробных соединений и обладает потенциалом в области разработки новых антимикробных препаратов. Работа поддержана грантом 21-14-00357 Российского научного фонда.

Изучение хозяйственно-ценных свойств новых изолятов группы *Bacillus*

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

¹ Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург

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

Борьба с вредителями сельскохозяйственных культур имеет решающее значение для обеспечения продовольственной безопасности (Savary et al., 2019). Использование химических пестицидов может повлечь за собой ряд нежелательных последствий, в том числе накопление в почве и сточных водах, выявление остаточных количеств пестицидов в пищевой продукции, отравление при использовании без средств индивидуальной защиты. В свою очередь, биопестициды разрешены к применению в экологически безопасных системах земледелия, закрытом грунте, охраняемых природных территориях и рекреационных зонах (Abdollahdokht et al., 2022). Одними из наиболее востребованных продуцентов, используемых при производстве биопестицидов, являются бактерии группы *Bacillus*. Из различных природных образцов (почва, лиственной опад, мох, мертвые насекомые), отобранных в пределах 8 различных географически изолированных регионов, нами были выделены и идентифицированы 150 новых изолятов *Bacillus*. В рамках идентификации изолятов оценивалась способность бактерий продуцировать кристаллические токсины на стадии споруляции, проводился анализ морфологии вегетативных клеток, спор, колоний, секвенирование последовательности нуклеотидов генов *gyrB* и 16S рРНК. Для выявления потенциально полезных для сельского хозяйства свойств нами была протестирована бактерицидная и фунгицидная активности изолятов с помощью «платформы Ваксмана» в отношении 8 фитопатогенов. Двадцать три изолята продемонстрировали антибактериальную активность в отношении патогенов сельскохозяйственных культур. Основываясь на результатах исследования, были отобраны 23 изолята с целью проведения их полногеномного секвенирования. Работа с прочтениями осуществлялась с использованием разработанного нами программного конвейера *BasPack*, позволяющего осуществлять сборку и аннотацию геномов представителей группы *Bacillus*. Исследование геномов показало большое видовое разнообразие выделенных изолятов, в том числе были идентифицированы различные штаммы *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. wiedmannii*, *B. pumilus*, *Lysinibacillus parviboronicapiens*, *Peribacillus frigorigerans*. В геномах всех изученных изолятов выявлено от 9 до 40 кластеров генов, предположительно отвечающих за синтез антибактериальных соединений. Кроме того, большинство исследованных геномов содержит 1 или 2 генных кластеров, вероятно отвечающих за синтез белков с фунгицидными свойствами. Поиск последовательностей генов токсинов, обладающих инсектицидными свойствами, показал наличие в геномах изолятов различных вариантов токсинов *Cry*, *Cyt*, *Vip*, *Vpb*, *Spp*, *Mpp*, *Trp*, *Xpp*. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о потенциальной ценности выделенных изолятов

для сельского хозяйства в связи с их возможными инсектицидными, антибактериальными и фунгицидными свойствам, в том числе в отношении важных вредителей и патогенов сельскохозяйственных культур.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2021-1055 от «28» сентября 2021 г.

Изменения в составе микробного сообщества очистных сооружений предприятия органического синтеза при формировании углеводородных шламов

*Романова В.А. *, Булыгина Е.А., Маркелова М.И., Григорьева Т.В., Лайков А.В.*

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

В настоящее время накопление углеводородсодержащих отходов, являющихся неизбежными побочными продуктами предприятий химической промышленности, является серьезной экологической проблемой. Микрофлора отходов представляет интерес поскольку способна выживать в условиях комплексного загрязнения и является источником адаптированных промышленно-ценных микроорганизмов. Целью данной работы является характеристика состава бактериальных сообществ на различных этапах функционирования очистных сооружений предприятия химического производства.

Объектом исследования являлись сообщества микроорганизмов, обитающие в очистных сооружениях предприятия Казаньоргсинтез (г. Казань). Сточные воды поступают на очистные сооружения через 2 коллектора, после чего они усредняются и нейтрализуются. Всплывающие углеводороды и образующиеся нерастворимые осадки откачиваются и депонируются в шламонакопителях. Нами исследовано микробное сообщество поступающих сточных вод, их осадков и шламов с разной глубины шламонакопителя. Из данных образцов была выделена ДНК, проведена амплификация гена 16S рРНК с последующим секвенированием на платформе Illumina MiSeq на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета.

Обнаружено, что поступающие из двух коллекторов сточные воды характеризовались низкими показателями индекса Шеннона (2,32 и 3,17) и количеством операционных таксономических единиц (ОТЕ). Доминирующее положение в сообществе сточных вод занимали бактерии класса Betaproteobacteria, представленные семейством Methylophilaceae. Наибольшее из всех исследованных образцов разнообразие выявлено для осадков сточных вод, для которых индекс Шеннона составлял 7,59 и 4,76. При этом на фоне преобладания бактерий класса Betaproteobacteria возросла представленность класса Alphaproteobacteria. Индекс

Шеннона образцов шлама снижался при увеличении глубины отбора проб с 6,28 до 4,05. Из всех исследованных образцов сообщества химических шламов отличались увеличенной долей представителей классов Gammaproteobacteria и Actinomycetes, среди которых описано множество деструкторов углеводов и ксенобиотиков.

Выявленное в исследованных сточных водах, осадках и шламах высокое разнообразие потенциальных деструкторов открывает новые возможности для создания технологий биологического обезвреживания, основанных на стимуляции собственной микрофлоры отходов.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной в рамках государственной поддержки Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров (Приоритет-2030) и в рамках выполнения проекта № FZSM-2023-0013 государственного задания КФУ.

Проблема терапии инфекций, вызываемых *Mycobacterium abscessus*

Салина Е.Г.

1 Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва

2 Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.В. Овчинникова Российской академии наук, 117997

Бактерия *Mycobacterium abscessus*, относящаяся к нетуберкулезным быстрорастущим микобактериям, в последние годы вызывает все больше опасений из-за своей растущей распространенности в мире, главным образом, у лиц с повышенной восприимчивостью к легочным инфекциям (пациентов с муковисцидозом, бронхоэктазами, хронической обструктивной болезнью легких, ранее перенесенной туберкулезной инфекцией и т.д.). По разным оценкам, до 30% больных муковисцидозом инфицировано бактерией *M. abscessus*, что приводит к развитию у них трудноизлечимой микобактериальной инфекции. В связи с этим существует тенденция рассматривать бактерию *M. abscessus*, ранее классифицированную как условный патоген, как патогенную микобактерию.

Несмотря на значительное сходство генома *M. abscessus* с геномом патогенной бактерии *M. tuberculosis*, использование противотуберкулезных препаратов для лечения инфекций, вызываемых *M. abscessus* ограничено, поскольку она обладает чрезвычайно высокой устойчивостью к антибиотикам, что существенно затрудняет борьбу с ней. Эффективные специфические лекарственные средства для лечения

инфекций, вызываемых *M. abscessus*, все еще не найдены. Как известно, иммунный ответ макроорганизма на микобактериальную инфекцию проявляется в виде образования гранулемы – скопления рекрутированных подмножеств иммунных клеток хозяина, которые образуют физическую структуру для ограничения бактерий, и *M. abscessus* не является исключением. Пребывая в гранулеме, клетки бактерий способны длительно персистировать в состоянии гипобиоза, что еще сильнее может затруднять и без того невысокую эффективность проводимой антибактериальной терапии.

Ранее мы идентифицировали условия дефицита калия как специфический экологический стимул для формирования метаболически инертного состояния у микобактерий *in vitro*, сопровождающегося снижением способности к культивированию. В ходе настоящей работы мы обнаружили, что клетки *M. abscessus*, характеризующиеся сниженным уровнем метаболической активности, полученные в результате длительной (5 недель) инкубации в K⁺-дефицитной среде, характеризовались устойчивостью в подавляющему большинству исследуемых антибактериальных препаратов, но проявляли чувствительность к противотуберкулезному препарату бедаквилину с проявлением бактерицидного эффекта, тогда как на активные, делящиеся клетки *M. abscessus*, растущие на оптимальной среде, бедаквилин не оказывал бактерицидного действия. Мы полагаем, что чувствительность метаболически инертных клеток *M. abscessus* к бедаквилину может возникать благодаря модификации клеточной стенки, идентифицированной нами у *M. abscessus* при длительной инкубации в условиях недостатка калия. Очевидно, что для понимания целесообразности использования бедаквилина для лечения инфекций *M. abscessus* необходимы дополнительные исследования.

Работа поддержана Российским научным фондом (грант 23-15-00173).

Исследование микробиомов кишечника стерляди *Acipenser ruthenus*, выращенной в условиях аквакультуры

Скворцова Е.Г.^{1*}, Филинская О.В.¹, Микряков Д.В.²

¹ ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, Ярославль, Россия

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

Научное сообщество давно уделяет большое внимание кишечному микробиому человека и животных, в том числе рыб. Так, Vasanu G.M. и Orrea L. обнаружили, что бактериальный профиль различался у дикой и домашней стерляди, но были и некоторые общие бактериальные популяции. При этом исследования микробиоты кишечника рыб, особенно ее функциональных ролей, значительно отстают от наземных позвоночных (Weihaou Ou. et al., 2021). В связи с этим цель работы – сравнительная оценка эффективности влияния кормовой добавки для аквакультуры на основе эллаготанинов «Акватан» и пробиотика «Экофлор» на состояние кишечного микробиома стерляди *Acipenser ruthenus*. Исследования проводили на годовиках стерляди средней массой 305.5 ± 27.47 г и длиной 37.0 ± 0.93 см. Контрольная и опытные группы рыб содержались в отдельных проточных пластиковых бассейнах. На метагеномные исследования отбирали фрагменты толстого кишечника 4 особей перед началом эксперимента и аналогичного количества рыб из каждой группы на 7-е, 45-е и 60-е сут. Результаты проведенного эксперимента показали значительные изменения состава микробиоты во всех группах рыб. Перед началом эксперимента доминирующие типы биоты: Proteobacteria 26.9%, Firmicutes 29.9% и Fusobacteria 25.1%. Эти данные подтверждают мысль Tarnecki A.M. и его соавторов (2017), что теория общего микробиома может быть применима и к рыбам. Многочисленные исследования на карпах показали преобладание тех же таксонов, при этом карпы находятся далеко от стерляди в эволюционном плане, но близки в экологическом. При этом у двух особей третьим доминирующим типом зафиксирована Cyanobacteria, у четвертой филум Fusobacteria находился на первом месте. На 7-е сут. эксперимента у контрольной группы порядок доминирующих трёх типов составил Fusobacteria 54.6, Proteobacteria 11.8, Firmicutes 4.3%. Увеличился процент неклассифицированных типов с 2.2 до 25.6%. Снижение доли условно патогенных микроорганизмов типа Firmicutes наблюдалось и в опытных группах. Доминирующие типы были те же, их процент у рыб, получавших Акватан, составил 82.3, 6.5 и 5.4; у рыб, принимавших пробиотик – 63.0, 20.8 и 7.3%. Доля цианобактерий снизилась с 10 до < 1% во всех группах. У рыб контрольной и 2-й опытной группы четвертым по представленности типом стал Actinobacteria (2.8 и 2.7%). На 45-е сутки получили аналогичные результаты. Также обнаружено увеличение количества актинобактерий (с 0.6 до 2.7%) у стерляди, получавшей Акватан. На 60-е сут доля Actinobacteria (18.1%) у рыб контрольной группы превысила таковую Firmicutes (14.1%). Среди минорных филотипов можно упомянуть Spirochaetes, Verrucomicrobia, Synergistetes, Nitrospirae и др. Анализ полученных данных показал, что препарат Акватан оказал большее влияние на представленность

доминирующих типов (увеличилась доля фузобактерий) по сравнению с пробиотиком Экофлор и контрольной группой.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ (№ госрегистрации 123041800021-8) и гранта РНФ (проект № 22-26-20111).

Изучение влияния пробиотиков на микробиом тexasского белого перепела с помощью секвенирования нового поколения

*Смагина К.А. *, Скворцова Е.Г., Мостофина А.В.*

ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, Россия

В норме симбиотические отношения между кишечной микробиотой и хозяином в решающей степени определяют здоровье кишечника. Нарушение микрофлоры кишечника может приводить к несбалансированным отношениям хозяин-микроб-дисбиозу. Одна из стратегий нормализации состояния связана с пищевыми добавками (пребиотиками, пробиотиками). На метагеномный анализ было направлено 12 проб слепых отростков кишечника самцов тexasских белых перепелов, по 3 из каждой экспериментальной группы (1 – контрольная, не принимавшие пробиотик; 2 – первая опытная, принимавшие препарат ЭМ-курунга; 3 – вторая опытная, принимавшие препарат «Яросил» в дозировке 0,6 мл/кг; 4 – третья опытная, принимавшие препарат «Яросил» в дозировке 0,2 мл/кг). Метагеномный анализ позволил выявить 7 наиболее часто встречающихся типов кишечных бактерий: Firmicutes, Actinobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria, Tenericutes, Chloroflexi, Deferribacteres. Максимальное содержание Firmicutes имеет 1 опытная группа $71,3 \pm 16,48$, минимальное значение имеет 2 опытная группа $51,6 \pm 9,71\%$. У 2 опытной группы наблюдается максимальное значение типа Bacteroidetes – $9,9 \pm 3,38$, минимум у контрольной группы $8,5 \pm 0,80\%$. Bacteroidetes и Firmicutes – наиболее преобладающие представители в кишечнике у птиц, они являются маркером, связанным со здоровьем и метаболизмом. Виды Firmicutes разлагают полисахариды и производят бутират, а Bacteroidetes виды расщепляют сложные углеводы и синтезируют в основном пропионат. Другие исследования показали, что более высокая численность Firmicutes может привести к более эффективному усвоению калорий из пищеварительного тракта. Содержание типа Actinobacteria имеет максимальное значение у 2 опытной группы ($27,6 \pm 4,75$), минимум – у 1 опытной группы $14,4 \pm 8,44\%$. Тип Actinobacteria состоит как из аэробных, так и анаэробных грамположительных бактерий, однако отличается от типа Firmicutes более высоким содержанием гуанина и цитозина в структуре ДНК. В частности, данные микроорганизмы обеспечивают защиту от кишечных патогенов с помощью ряда процессов, а именно: прямой конкуренции, активности гидролазы желчных кислот, модуляции локального иммунного ответа и способности создавать высокую

пристеночную концентрацию вблизи кишечного эпителия которые помогают в изменении и поддержании нормального физиологического функционирования. Доля типа Proteobacteria уже значительно меньше: от $1,6 \pm 0,81$ у 1 опытной группы до $3,1 \pm 1,55\%$ у 2 опытной группы. Proteobacteria считается нормальной микрофлорой, но при высоком процентном содержании может свидетельствовать о воспалительных процессах в организме животных. Доля типа Tenericutes составила менее 1%, что является хорошим показателем, так как Tenericutes – это патогенные бактерии, многие из них сапротрофы и паразиты, в том числе возбудители различных заболеваний. Ещё в меньшем количестве встречались Chloroflexi (от $0,04 \pm 0,02$ у 2 опытной группы до $0,16 \pm 0,03$ контрольной группы) и Deferribacteres (от $0,02 \pm 0,01$ у 3 опытной группы до $0,06 \pm 0,01\%$ у контрольной группы).

Применение микрофлюидных технологий для решения задач микробиологии и биомедицины

Смирнов И.В.

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

Разработка современных методов создания и высокопроизводительного скрининга комбинаторных библиотек для получения потенциальных лекарственных препаратов является одной из приоритетных задач биомедицины. В докладе обсуждается использование микрофлюидных технологий как платформы для ультравысокопроизводительного скрининга природных и искусственных библиотек для решения следующих задач микробиологии и биомедицины: поиска новых антибиотиков, получения специфических антител для терапии инфекционных заболеваний как вирусной, так и бактериальной природы.

Молочнокислые бактерии из редких сельскохозяйственных и диких животных перспективны для создания новых пробиотиков

Соколянская Л.О.^{1*}, Лукина А.П.¹, Авакян М.Р.¹, Глухова Л.Б.¹,

Ракитин А.В.¹, Карначук О.В.¹

¹ Кафедра физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики, ТГУ, Томск

Бактерии из группы *Lactobacillaceae* широко используют в пищевой промышленности. Они также представляют важный источник пробиотиков для человека и сельскохозяйственных животных. До сих пор присутствию генов устойчивости к антибиотикам (ARG) у лактобацилл уделяли мало внимания. ARG-содержащие пробиотики, основанные на лактобациллах, могут представлять опасность с точки зрения переноса устойчивости к антибиотикам в организм человека и животных. Появились исследования, подтверждающие присутствие ARG у *Lactobacillaceae*, используемых для создания пробиотиков. Источником лактобацилл свободных от ARG могут являться животные, не имевшие контакта с антибиотиками в виде добавок к питанию или лекарственных препаратов. Цель настоящего исследования заключалась в выделении чистых культур молочнокислых бактерий из кишечной микробиоты верблюдов (*Camelus bactrianus*) и архаров (*Ovis ammon*). Верблюды из Кош-Агачского района Республики Алтай разводятся путем отгонно-пастбищного скотоводства, питаются естественной растительностью в отдаленных горных районах и не получают дополнительные кормовые смеси. Архары занесены в Красную Книгу Российской Федерации, обитают в узком ареале высокогорья Горного Алтая на границе с Монголией, их контакт с человеком и антибиотиками исключен в силу образа жизни.

Свежие фекалии животных для выделения бактерий были отобраны в ноябре 2021 и 2022 годов в Кош-Агачском районе республики Алтай. Отбор проб фекалий проводили в период, когда температура воздуха достигала – 20 °С, что снижало возможную контаминацию микроорганизмами из окружающей среды. Первоначальные накопительные культуры получали на средах MRS, DSMZ58, DSMZ638 и Блаурокка. Чистые культуры получали путем выделения отдельных колоний на чашках Петри в анаэробных условиях, заполненных азотом и серий предельных разведений на жидких средах. Инкубировали культуры при температуре 37-45 °С.

Полученные чистые культуры *Lactobacillaceae* были родственниками *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactisilactobacillus fermentum*, *Lactiplantibacillus pentosus*, *Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus*, *Hafnia paralvei* со сходством последовательностей гена 16S рПНК 98 – 99%. Были отобраны чистые культуры, обладающие полезными свойствами для использования в качестве пробиотиков, включая устойчивость к низким рН и солям желчных кислот, а также способностью к агрегации клеток. Чистые культуры были чувствительны к тетрациклину, стрептомицину, ампициллину, гентамицину и канамицину. Дальнейшее определение полных последовательностей геномов полученных штаммов позволит подтвердить отсутствие ARG.

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

Альгологические коллекции в России: проблемы, современное состояние и перспективы развития

Темралеева А.Д.^{1}, Синетова М.А.²*

¹ ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Пущино, Россия

² Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

Коллекции водорослей являются систематизированными хранилищами живых культур или фиксированных препаратов и обеспечивают исследователей необходимым материалом как для фундаментальных и прикладных работ, так и для образовательной деятельности. В 2022 году на VI Всероссийской научной конференции с международным участием «Водоросли: проблемы таксономии и экологии, использование в мониторинге и биотехнологии», проходившей на Звенигородской биологической станции им. С.Н. Скадовского, был проведен тематический круглый стол, посвященный альгологическим коллекциям (куратор Синетова М.А., докладчик Темралеева А.Д.). Руководители официальных и рабочих российских коллекций водорослей обсудили проблемы поддержания и развития коллекций и одобрили идею анкетирования в качестве первого шага координации работы альгологических коллекций и возможного дальнейшего сотрудничества. По итогам был проведен опрос 20 российских коллекций водорослей: ACSSI (Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН, Пущино), VAS (Лимнологический институт, Иркутск), BCAC (Башкирский государственный педагогический университет имени М. Акмуллы, Уфа), CALU (Научный парк Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург), IBSS (ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», Севастополь), IBSSca (ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», Севастополь), INEP (Институт проблем промышленной экологии Севера КНЦ, Апатиты), IPPAS (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва), IRK-A (Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск), KPABG (Полярно-альпийский ботанический сад-институт им. Н.А. Аврорина, Апатиты), LABIK (Ботанический институт РАН им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург), NAMSU (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва), SYKOA (Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УРО РАН, Сыктывкар), VCA (Федеральный научный

центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток), WODC (Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН, Феодосия), Коллекция агрономически полезных цианобактерий (ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма», Симферополь), Коллекция лаборатории молекулярной систематики водных растений ИФР РАН (Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва), Рабочая альгологическая коллекция научной лаборатории биотехнологий (Астраханский государственный университет им. В. Н. Татищева, Астрахань), Рабочая коллекция водорослей Е.С. Гусева (Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва), Сетевая коллекция симбионтных микроорганизмов и их консорциумов (Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения РАН, Оренбург). Результаты анализа данных анкетирования позволили не только оценить текущее состояние альгологических коллекций и перспективы их развития, но и выявить проблемы и пути улучшения коллекционной деятельности в России.

Как белки Svx «помогают» фитопатогенным пектобактериям вызывать заболевания у растений-хозяев

Тендюк Н.В.^{1}, Коннова Т.А.¹, Петрова О.Е.¹, Осипова Е.В.¹, Макшакова О.Н.¹, Мухаметзянов Т.А.², Дьяконова А.А.¹, Горшков В.Ю.^{1,2}*

¹ Казанский институт биохимии и биофизики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук», ул. Лобачевского 2/31, г. Казань, РФ

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», ул. Кремлевская 18, г. Казань, РФ

Фитопатогенные пектобактерии вызывают широко распространенные заболевания растений, среди которых наиболее известны мягкие гнили и черная ножка. Основными факторами вирулентности пектобактерий считаются полисахарид-деградирующие экстраклеточные ферменты. Однако в арсенале этих микроорганизмов есть и другие факторы вирулентности, и конкретные функции ряда из них остаются неизвестными. К таким факторам вирулентности относится экстраклеточный белок Svx. Целью нашей работы является характеристика структуры и свойств белка Svx для того, чтобы выяснить его роль в патогенезе. Нами проведен биоинформатический анализ аминокислотной последовательности белка Svx, получены очищенные препараты рекомбинантного белка Svx дикого типа и его мутантных форм, а также оценено влияние исследуемого белка на фитоиммунные реакции растений. В ходе биоинформатического анализа нами установлено, что белок Svx имеет два функциональных домена: протеазный и ацилтрансферазо-подобный.

Активный сайт протеазного домена образован цинк-связывающим мотивом HEXXH(8,28)E, характерным для цинк-зависимых металлопротеаз. Наличие протеазной активности у белка Svх пектобактерий было доказано нами экспериментально. Ферментативная активность мутантных форм белка Svх E141A и E167A по аминокислотным остаткам, расположенным в активном центре протеазного домена, была снижена относительно активности белка дикого типа на 76% и 60% соответственно. Это свидетельствует о том, что белок Svх действительно является цинк-зависимой металлопротеазой. Для того чтобы предсказать потенциальные субстраты белка Svх пектобактерий мы провели докинг модели его третичной структуры с предполагаемыми лигандами. Результаты докинга свидетельствовали о том, что белок Svх потенциально способен взаимодействовать с экстенсинами – основными структурными гликопротеинами растительной клеточной стенки, разрушение которых может способствовать развитию патологического процесса.

Для того чтобы выяснить каким образом белок Svх влияет на защитные системы растения, мы инфильтрировали очищенные препараты белка Svх дикого типа и его мутантной формы в листья растений табака. Оказалось, что белок Svх дикого типа обладает иммуносупрессорными свойствами, поскольку способен снижать уровень перекиси водорода в растениях, обработанных хитоолигосахаридами – классическими индукторами количественной устойчивости, а также индуцировать этилен-опосредуемые восприимчивые ответы растений. Инфильтрация мутантной формы белка Svх не приводит к активации в растениях подобных ответных реакций. Следовательно, наличие протеазной активности определяет иммуносупрессорные свойства белка Svх. Таким образом, нами продемонстрировано, что белок Svх может способствовать развитию исследуемой инфекции благодаря способности подавлять иммунные ответы и индуцировать восприимчивые ответы растения-хозяина.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-14-00194 и госзадания.

Направленная эволюция биоразнообразия для поиска антимикробной активности

Терехов С.С.^{1}, Пипия С.О.¹, Мирзоева Н.З.¹, Баранова М.Н.¹, Мокрушина Ю.А.¹,
Смирнов И.В.^{1,2}, Габиров А.Г.^{1,2}*

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

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Здравоохранение 21 века все чаще сталкивается с острой проблемой распространения антибиотикорезистентности. Классические платформы скрининга антимикробной активности, чрезвычайно эффективно зарекомендовавшие себя в прошлом, теряют свою актуальность ввиду исчерпания неизученных культивируемых продуцентов антибиотиков. В то же время, неконтролируемое использование антибиотиков создает постоянное селективное давление, приводящее к накоплению детерминант резистентности и отбору мультирезистентных патогенов, представляющих особую опасность для жизни людей. Альтернативными источниками продуцентов антибиотиков могут быть представители неклассических, малоизученных микробиомов. При этом использование технологий капельной микрофлюидики может многократно повысить эффективность отбора штаммов-антагонистов. Несмотря на это, идентификация продуцентов новых антибиотиков чрезвычайно затруднена проблемой «переоткрытия» антибиотиков. Подходы, основанные на создании искусственного биоразнообразия антимикробных агентов, лишены этих недостатков и могут быть использованы для направленного создания эффективных и высокоспецифичных антимикробных агентов. Комбинация технологий синтетической биологии, гетерологической продукции, а также ультравысокопроизводительного скрининга индивидуальных микроорганизмов позволяет осуществлять направленную эволюцию ДНК-кодируемых антимикробных агентов. Дальнейшее развитие этих технологий позволит осуществлять систематическую разработку новых антимикробных агентов для борьбы с антибиотикорезистентными патогенами.

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

Механизм синергетического действия спор и кристаллического эндотоксина бактерий *Bacillus thuringiensis* при заражении колорадского жука

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

¹ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный аграрный университет, 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

Споры и кристаллический токсин (Cry-токсин) энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) являются основой биологических препаратов для защиты растений от насекомых – вредителей. Основной вклад в развитие токсикоза вносит токсин, однако совместное использование со спорами повышает эффективность биопрепаратов. Бактерии и синтезируемые ими токсины обладают кишечным действием на насекомых, поэтому эпителий кишечника является важным механическим барьером на пути инфекционных агентов. В данной работе изучены основные антибактериальные механизмы защиты в среднем кишечнике личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* при бактериальной инфекции *Bt*, вызванной спорами и/или кристаллическим токсином. Показан синергетический эффект совместного применения спор и кристаллического эндотоксина Cry3A бактерий *Bacillus thuringiensis* в смертности личинок колорадского жука. В течение 12 ч после заражения токсины Cry3A вызывали 1,5-кратное увеличение уровня активных форм кислорода (АФК) и малонового диальдегида (перекисное окисление липидов) в среднем кишечнике – ключевых показателей повреждения тканей. Установлено повышение уровня экспрессии генов детоксицирующих, антиоксидантных и противомикробных факторов в кишечнике личинок *Leptinotarsa decemlineata* при скармливании спор и токсина Cry3A. Токсины Cry3A *Bt* оказывают негативное воздействие на физиологическое состояние личинок, вызывают нарушение окислительно-восстановительного баланса в кишечнике. Споры и вегетативные клетки бактерий вызывают индукцию иммунного ответа насекомых и вносят вклад в развитие инфекционного процесса, синтезируя вторичные факторы вирулентности.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-16-20031 и Правительства Новосибирской области (№ р-4).

Амилоидные свойства белка Dps *Salmonella enteritidis* var. Issatschenko

Фаюд Х. ^{*1,2}, Белоусов М.В. ^{1,2}, Антонец К.С. ^{1,2}, Нижников А.А. ^{1,2}

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

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

*e-mail: Haidar.fayoud@gmail.com

Амилоиды представляют собой фибриллярные белковые агрегаты, характеризующиеся высокоупорядоченной пространственной структурой, называемой кросс-β. Эта структура определяет устойчивость амилоидов к ионным детергентам, а также специфические эффекты при связывании некоторых красителей: двойное лучепреломление яблочно-зеленого цвета при связывании с красителем Конго красный и усиление флуоресценции красителя Тиофлавин-Т. Поиск новых амилоидов является актуальной задачей современной биологии, поскольку они играют патологическую и функциональную роль в широком спектре биологических процессов. Наибольшее разнообразие функциональных амилоидов было обнаружено у прокариот. Основными функциями бактериальных амилоидов являются образование биопленки, преодоление поверхностного натяжения и метаболизм бактериальных токсинов.

При помощи метода протеомного скрининга амилоидов (PSIA) нами были выявлены белки, образующие детергент-устойчивые агрегаты в клетках свободноживущей культуры бактерии *Salmonella enteritidis* var. Issatschenko. Далее среди полученного набора белков при помощи биоинформатического анализа были выявлены наиболее вероятные кандидаты, имеющие участки, потенциально склонные к амилоидогенезу. Для экспериментальной проверки амилоидных свойств нами был выбран белок Dps, принадлежащий к семейству ферритинов, обладающий способностью связывать ДНК и агрегировать в неблагоприятных условиях.

Нами были получены плазмиды для сверхпродукции Dps и успешно проведена индукция сверхпродукции этого белка и его очистка. Анализ способности белка к формированию агрегатов показал, что в определенных условиях этот белок, действительно, образует детергент-устойчивые агрегаты. Более того, результаты трансмиссионной электронной микроскопии показали его способность к формированию упорядоченных фибрилл. Секреция белка Dps на поверхность клеток *E. coli* в системе C-DAG привела к возникновению окрашенных колоний на среде с добавлением конго красного, что свидетельствует в пользу формирования этим белком фибрилл.

Кроме того, при сверхпродукции Dps в клетках *E. coli* было отмечено формирование крупных агрегатов, связывающих конго красный и демонстрирующих двойное лучепреломление в поляризованном свете.

Таким образом, полученные данные показывают, что белок Dps формирует агрегаты, обладающие амилоидными свойствами, однако более детальный анализ

амилоидных свойств этого белка станет возможным после получения специфичных антител к нему, что выполняется в настоящее время.

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

Изучение влияния условий индукции на продуктивность рекомбинантных штаммов *Escherichia coli*

Хасаншина З.Р. , Корнаков И.А., Буслаева Е.А., Латыпов В.Ф.*

RnD центр компании ГЕРОФАРМ

Системы с высоким уровнем экспрессии рекомбинантного белка необходимы для получения продуктов для терапевтического применения. В настоящее время для производства терапевтических белков используются прокариотические, растительные и эукариотические системы экспрессии. Среди прокариотических систем экспрессии *Escherichia coli* имеет ряд преимуществ: высокая скорость роста, хорошо охарактеризованная генетика, использование простых сред, высокая продуктивность и экономическая эффективность. На эффективность биосинтеза рекомбинантных белков влияют как его физико-химические свойства, выбранный штамм-реципиент и генетическая конструкция, так и условия культивирования: состав питательной среды, условия индукции, режим ферментации. Классическая стратегия получения белка в *E.coli* включает в себя разделение фаз роста и биосинтеза, для уменьшения метаболической нагрузки на клетку. Разделение осуществляется за счет использования индуцибельного промотора. Известно, что наиболее критическими параметрами процесса культивирования рекомбинантных *E.coli* с индуцибельными промоторами являются условия индукции: температура культивирования, OD600 индукции, концентрация индуктора, pH. При этом взаимодействия этих факторов влияют на продуктивность. Использование традиционного подхода к постановке экспериментов не позволяет учесть взаимодействия факторов, влияющих на продуктивность. Следовательно, необходимо использовать статистический метод Design of experiments (DoE), который позволяет изменять несколько факторов за раз, систематизировать обнаружение взаимодействий и построить проектные поля процесса, что важно для фармацевтической разработки.

Таким образом, цель данного исследования оптимизировать условия индукции штамма-продуцента *Escherichia coli* для увеличения продуктивности.

С использованием классических подходов генной инженерии и молекулярной биологии разработали 4 штамма-продуцента *E.coli*. Оптимизация условий индукции проводили в колбах с использованием подхода DoE. Валидацию выбранных условий

проводили в биореакторах рабочим объемом 3-литра. Для построения моделей использовали программное обеспечение MODDE 12.v1 (Sartorius). Количественное содержание целевого белка определяли методом капиллярного электрофореза.

В результате проведенных работ были получены генетические конструкции, обеспечивающие высокий выход целевых белков. Получены стабильные штаммы-продуценты. Проведена оптимизация процесса индукции. Построены математические модели, описывающие процесс индукции для каждого штамма-продуцента *E.coli*. Определено, что все исследованные факторы, кроме концентрации индуктора, оказывают влияние на рост и биосинтез.

В результате оптимизации условий индукции продуктивность штаммов-продуцентов увеличена в более чем в 2 раза. Разработанная технология было масштабировано на опытно-промышленные масштабы.

Влияние агрохимических обработок на бактериальное сообщество почвы под посевами подсолнечника (*Helianthus annuus L.*)

Хмелевцова Л.Е.^{1}, Ажогина Т.Н.¹, Хаммаму М.И.¹, Полиенко Е.А.², Сазыкин И.С.¹*

¹ ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», г. Ростов-на-Дону, Россия

² ФГБНУ «Федеральный Ростовский аграрный научный центр», пос. Рассвет, Ростовская область, Россия

Разнообразие почвенных микробов имеет большое значение для устойчивого функционирования сельскохозяйственных почв. Изменения в бактериальном сообществе могут служить индикатором воздействия сельского хозяйства на качество почвы. Целью нашей работы было изучить влияние минеральных удобрений и пестицидов на бактериальное сообщество сельскохозяйственной почвы. Полевой эксперимент проводили на базе ФГБНУ "Федеральный Ростовский аграрный научный центр" (пос. Рассвет, Ростовская область). Подсолнечник сорта Реванш F1 выращивали в 4 вариантах обработок – контроль, минеральные удобрения (аммофос (12:52), P40), пестициды, совместное внесение удобрений и пестицидов. Пробы почвы отбирали «методом конверта» трижды – по вегетации до внесения пестицидов, промежуточный отбор после внесения пестицидов и отбор на момент сбора урожая. Из почв выделяли тотальную ДНК для дальнейшего секвенирования 16S рРНК с использованием системы MiSeq. Чтения обрабатывали и анализировали с помощью программного обеспечения QIIME версии 2 (<http://qiime.org/>), базы данных GreenGenes 2. Рассчитывали индексы разнообразия Chao1, Шеннона и Симпсона. В результате было показано, что в сельскохозяйственных почвах под посевами подсолнечника преобладают бактерии филумов Actinobacteriota (38,0-43,9%), Proteobacteria (12,2-17,8%), Planctomycetota (11,9-17,8%), Chloroflexota (5,5-8,0%), Acidobacteriota (5,5-7,3%), Verrucomicrobiota (1,7-6,5%), Gemmatimonadota (1,4-4,5%), Bacteroidota (1,1-

3,87%). Относительное обилие филумов Proteobacteria, Planctomycetota, Bacteroidota, Acidobacteriota, Gemmatimonadota увеличивалось при внесении минеральных удобрений на 6,7%; 9,5%; 73,9%; 15,1%; 123,9% соответственно, а филумов Actinobacteriota, Chloroflexota и Verrucomicrobiota – уменьшалось на 8,6%; 24% и 10,2%. Обработка пестицидами увеличивала относительную численность Actinobacteriota, Planctomycetota, Acidobacteriota и Gemmatimonadota на 7,4%; 22,8%; 7,5% и 23,6% соответственно, и негативно влияла на численность Proteobacteria, Bacteroidota, Chloroflexota и Verrucomicrobiota (снижение на 12,2%; 54,4%; 15,7%; 20,0% соответственно). При совместном внесении удобрений и пестицидов отмечали увеличение обилия филумов Proteobacteria, Bacteroidota и Gemmatimonadota на 23,1%; 61% и 29,1% соответственно, снижение – Actinobacteriota, Chloroflexota, Acidobacteriota и Verrucomicrobiota на 2,5%; 7,6%; 9,8%; и 19,4%. На α -разнообразии бактериального сообщества почвы под посевами подсолнечника негативно влияла обработка пестицидами. Как отдельно, так и совместно с удобрениями, они вызывали снижение индексов богатства и разнообразия (наблюдаемые OTU, индексы Chao1, Шеннона и Симпсона), особенно сильно выраженное при обработке только пестицидами. В контрольной почве и почве с внесением только удобрений, напротив, наблюдалось увеличение α -разнообразия.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-76-10048, <https://rscf.ru/project/21-76-10048/> в Южном федеральном университете.

Характеристика геномов *Ligilactobacillus salivarius*, выделенных от пациентов с болезнью Крона

Хуснутдинова Д.Р.^{1}, Маркелова М.И.¹, Синягина М.Н.¹, Сенина А.М.¹, Булыгина Е.А.¹, Абдулхаков С.Р.^{1,2}, Григорьева Т.В.¹*

¹ Казанский (Приволжский) Федеральный университет, Казань, Россия

² Казанский Государственный медицинский университет, Казань, Россия

Лактобациллы – резидентные представители микробиоты кишечника человека, которые широко распространены в качестве лечебно-профилактических пробиотических препаратов для облегчения симптомов различных заболеваний, в том числе болезни Крона (БК). Исследования микробиоты кишечника при БК выявили ассоциации острой фазы с увеличением представленности лактобацилл, в частности *L. salivarius*, *L. gasseri* и *L. mucosae*. Сочетание классических методов микробиологии с секвенированием дает возможность изучать физиологические и выявлять уникальные генетические особенности характеристики отдельных штаммов, связанные с их средой обитания. В связи с этим, цель данного исследования –

сравнительная характеристика геномов *L. salivarius* от пациентов с БК и здоровых добровольцев и поиск ассоциаций с заболеванием.

В ходе исследования проанализированы 3 штамма *L. salivarius*, выделенные из образцов кала от 5 пациентов с БК, и 4 штамма *L. salivarius* от 18 здоровых добровольцев. Выделение и культивирование штаммов проводили с использованием среды MRS (ФБУН ГНЦ ПМиБ, Россия) при 37°C, с последующей идентификацией с помощью масс-спектрометра MALDI Biotyper ("Bruker Daltonics", Германия). Выделение тотальной ДНК осуществляли с использованием набора ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, США). Секвенирование проводили на приборе NextSeq500 (Illumina, США), с последующим использованием программ Spades и Prokka.

По результатам полногеномного секвенирования штаммы *L. salivarius* пациентов с БК обладают средним размером генома 2,01 ($\pm 0,08$) Мб, здоровых добровольцев - 1,92 ($\pm 0,0$) Мб. ГЦ-состав значительно не отличался и составил 32,77 ($\pm 0,01$)% и 32,70 ($\pm 0,09$)% для БК и здоровых добровольцев, соответственно. Однако, среднее количество белок-кодирующих генов в геномах *L. salivarius* от пациентов с БК было больше – от 1873 до 2039, в сравнении с геномами *L. salivarius* от здоровых добровольцев - от 1835 до 1859 ($p < 0,05$).

У всех штаммов были идентифицированы плазмиды размером 141,3 Кб (у пациентов с БК) и 34,9 Кб (у здоровых добровольцев). Одновременно с большим размером, плазмиды в штаммах *L. salivarius* от пациентов с БК кодируют большее количество генов (154), в отличие от плазмид в штаммах от здоровых добровольцев (38).

Таким образом, большая длина хромосомной и плазмидной ДНК в геномах *L. salivarius* от пациентов с БК может расширять оптимальные для лактобацилл условия и способствовать их выживанию. Дальнейшие исследования генетического потенциала, связанного с плазмидами, являются ключом к пониманию адаптационных механизмов бактерии, таких как устойчивость к антибиотикам и бактериальная вирулентность.

Работа выполнена на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования КФУ в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030) и финансируется за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету на выполнение государственного задания в сфере научной деятельности (проект № FZSM-2023-0013).

Эндофиты галофитных растений как кандидаты для создания антистрессовых микробиологических препаратов

Чеботарь В.К.^{1*}, Чижевская Е.П.¹, Келейникова О.В.¹, Баганова М.Е.¹, Заплаткин А.Н.¹, Костицын Р.Д.², Хонина О.В.², Лапенко Н.Г.²

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

² ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», Ставропольский край, Россия

Цель исследований- изучение микробиомов галофитных растений как источника функционально ценных для растений эндофитных бактерий с целью их использования для борьбы с абиотическими и биотическими стрессами растений, а также для выращивания сельскохозяйственных культур на засоленных почвах. Для этого была собрана коллекция галофитных растений, произрастающих в экстремально засушливых и засоленных регионах Ставропольского края России (Нефтекумский и левокумский район). Из корней и стеблей всех собранных галофитов выделены культивируемые штаммы эндофитных бактерий. В общей сложности выделено 28 изолятов, из них 13 изолятов – из тканей галофитов, произрастающих в Нефтекумском районе (*Salicornia europaea*, *Salsola australis*, *Bassia sedoides*) и 15 изолятов из галофитов, произрастающих в Левокумском районе (*Kochia prostrata*, *Salsola australis*). Проведена идентификация выделенных штаммов эндофитных бактерий на основании нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК. Большинство изолятов (23 из 28) были идентифицированы как *Bacillus* spp., остальные пять изолятов были отнесены к видам *Oceanobacillus* sp., *Paenibacillus* sp., *Pantoea* sp., *Alcaligenes* sp. и *Myroides* sp. Проведен всесторонний анализ функциональных свойств эндофитных штаммов. Изучена температуроустойчивость эндофитных штаммов. Выявлены девять изолятов *Bacillus* spp., способные к росту при 55°C. Наибольший диапазон роста обнаружен у штамма Se1-3S – от 10 до 55°C. Изучена солеустойчивость эндофитных штаммов. Из 28 выделенных эндофитов 21 штамм (рода *Bacillus* spp. и *Pantoea* sp.) показал устойчивость к 5% NaCl, 3 штамма *Bacillus* spp.– к 10% NaCl и один штамм *Oceanobacillus* sp – к 15% NaCl. Все наиболее солеустойчивые штаммы оказались эндофитами наиболее солеустойчивого галофита – *Salicornia europaea*. Изучены биохимические свойства эндофитов. Показано, что большинство штаммов обладают целлюлазной, амилазной, протеазной активностью, азотфиксирующей способностью, способностью к синтезу аммония и продукции индолилуксусной кислоты (ИУК). У двух штаммов (*Paenibacillus* sp. и Kp16R *Pantoea* sp.) выявлена фосфатмобилизующая способность. У пяти эндофитных штаммов обнаружена активность АЦК-деаминазы. Проведен анализ ростстимулирующей способности эндофитных штаммов. Отобраны семь штаммов *Bacillus* spp. и штамм Sa25-1S *Myroides* sp., проявляющие высокую ростстимулирующую активность (85-265% относительно контроля). Проведен анализ антифунгальных свойств эндофитов. Отобраны восемь штаммов рода *Bacillus*, проявляющие высокую степень подавления роста (59,1-81,2%) трех штаммов

патогенных грибов *Fusarium oxysporum*, *Bipolaris sorokiniana* и *Rhizoctonia solani*. Выделенные штаммы эндофитов могут оказаться перспективными кандидатами для разработки биопрепаратов, облегчающих фиторемедиацию засоленных почв и полезных для смягчения солевого стресса у растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект №22-26-00271.

Петергофская генетическая коллекция штаммов зеленых водорослей (ПГК) в Санкт-Петербургском университете

Чекунова Е.М.

Кафедра генетик и биотехнологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Микроводоросли представляют собой группу разнообразных фотосинтезирующих организмов, которые на нашей планете обеспечивают почти половину глобального фотосинтеза. Такие особенности, как широкий адаптивный потенциал, высокая скорость роста и простые потребности в питании делают их удобными объектами лабораторных исследований. Генетика микроводорослей в настоящее время менее изучена, чем генетика растений и животных организмов, и один из путей развития этой перспективной отрасли знаний предполагает создание и поддержание генетических коллекций.

Петергофская генетическая коллекция штаммов зеленых водорослей (ПГК) была создана на кафедре генетики и селекции Ленинградского (Санкт-Петербургского) университета в 70-тых годах 20-го века К.В. Квитко и А.В. Столбовой и до настоящего времени является единственной в России генетической коллекцией фотосинтезирующих эукариотических микроорганизмов. В основе коллекции - штаммы дикого типа и мутанты одноклеточной зеленой водоросли хламидомонады - *Chlamydomonas reinhardtii* (*C. reinhardtii*) – модельного объекта генетики фотосинтеза. Она также включает культуры штаммов хлорелл, сценедесмуса и других микроводорослей. В коллекции хранятся уникальные мутанты хламидомонады с нарушенным фотосинтезом, мутанты по биосинтезу хлорофиллов, ауксотрофные и светочувствительные мутанты и мутанты с нарушенной клеточной стенкой.

С момента создания и до настоящего времени ПГК является источником материалов для изучения генетического контроля фундаментальных биологических процессов, идущих в растительной клетке – фотосинтеза, биогенеза и функционирования хлоропластов, молекулярной организации мембран и метаболизма пигментов хлоропласта – хлорофиллов и каротиноидов. Штаммы хламидомонады из ПГК являются основой экспериментальных исследований как генетической регуляции

процессов фотосинтеза и биосинтеза пигментов хлоропласта, так и молекулярных механизмов адаптации фотосинтезирующих клеток к различным экологическим факторам (свету, температуре, и др.). Наличие у клеток хламидомонады жгутиков позволяет изучать и генетическую детерминацию процессов формирования структур и функций жгутикового аппарата микроорганизмов.

Перспективы использования штаммов из ПГК очень широки - от разработки тест-систем оценки экологической безопасности водных ресурсов, цито- и генотоксичности препаратов, до создания штаммов продуцентов вторичных метаболитов. Микроводоросли обладают широким метаболическим потенциалом, что делает их перспективными источниками получения новых вторичных метаболитов, которые могут быть использованы в фармацевтике, производстве продуктов питания и в сельском хозяйстве (для защиты растений).

Чувствительность микроорганизмов из различных систематических групп к листовым экстрактам ореха грецкого (*J. regia* L.)

Шабля А.С.^{1*}, Кондрашова М.М.², Жаркова Е.К.¹, Свиридова Л.А.¹, Смагина П.М.¹,
Устинова М.А.¹, Дренова Н.В.², Зубков А.В.¹

¹ Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева
² ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)

Микробиом фитосферы формируется и контролируется растением. Таксономический состав и функции микроорганизмов в значительной мере определяются биологически активными веществами, продуцируемыми растением-хозяином. Орех грецкий (*J. regia* L.) – ценная древесная культура, интродуцируемая в Московском регионе, способен активно подавлять грамположительные и грамотрицательные бактерии, а также микроскопические грибы благодаря содержанию 5-гидрокси-1,4-нафтохинона. Для изучения антимикробной активности ореха грецкого (*J. regia* L.) использовали водные, спиртовые экстракты и сок листьев, собранных в конце вегетации в учебно-научном производственном центре садоводства и овощеводства имени В.И. Эдельштейна на территории отдела плодовых культур «Мичуринский сад» РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, г. Москва. Антимикробную активность определяли диско-диффузионным методом по отношению к *Bacillus subtilis* В-5251, *Escherichia coli* М-17, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* ТСХА-4. Опыт выполнялся в четырехкратной повторности, в качестве контроля был использован 96% этанол. Статистическую обработку результатов проводили в программах STADIA 6.0 и MS Excel 2016.

Наибольшей антимикробной активностью по отношению ко всем испытанным штаммам обладал спиртовой экстракт листьев *J. regia* L. Самым чувствительным из исследуемых микроорганизмов оказался фитопатогенный гриб *F. oxysporum* (диаметр

зоны подавления составил $9,5 \pm 2$ мм). Антимикробная активность сока и водного экстракта не превышала 8 мм для всех тестируемых штаммов. Проведенный кластерный анализ (эвклидова метрика, стратегии дальнего соседа) выявил достоверное отличие спиртового экстракта от других исследуемых образцов.

Таким образом, орех грецкий (*J. regia* L.) может быть использован в качестве экологически безопасного источника антимикробных средств против микроорганизмов из различных систематических групп.

Антимикробные пептиды системы врожденного иммунитета: структура, функции, механизмы действия на бактериальные клетки, перспективы применения в медицине

Шамова О.В.

Институт экспериментальной медицины

В докладе будут представлены общие представления о многообразии структур и функций антимикробных пептидов (АМП) врожденного иммунитета человека и животных. Будут рассмотрены механизмы действия пептидов на бактериальные клетки, освещены различные виды биологической активности пептидов (антимикробная, иммуномодулирующая, противоопухолевая и др.), обосновано представление об АМП как о полифункциональных защитных молекулах. Будут рассмотрены пути внедрения новых лекарственных препаратов на основе структурных аналогов природных пептидов, эффективных в отношении антибиотикорезистентных бактерий, в том числе образующих биопленки, обсуждены перспективы и проблемы практического применения АМП в медицине.

Влияние ростстимулирующих ризобактерий на корневую экссудацию растений ячменя в условиях кадмиевого и фитопатогенного стрессов

*Шапошников А.И. *, Вишневская Н.А., Азарова Т.С., Шахназарова В.Ю., Бородин
Е.В., Лебединский М.И., Юзихин О.С., Струнникова О.К., Белимов А.А.*

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии

Исследование механизмов интеграции хозяйственно-ценных микроорганизмов с растениями и раскрытие потенциала растительно-микробных симбиозов для повышения адаптации сельскохозяйственных культур к неблагоприятным почвенно-

климатическим условиям и фитопатогенной нагрузке имеют высокую актуальность. Накопленная на сегодняшний день информация свидетельствует о важной роли корневой экссудации в жизнедеятельности микробных сообществ в ризосфере, активно изучаются обусловленные корневыми экссудатами механизмы функционирования и реализации ростостимулирующих функций полезных микроорганизмов, роль экссудатов в устойчивости растений к абиотическим стрессам и фитопатогенам. Целью наших исследований являлось изучение взаимосвязи антистрессовой активности ростостимулирующих ризобактерий и параметров корневой экссудации растений.

Показано, что в условиях кадмиевого стресса штаммы *Pseudomonas oryzae* Ер-4 и *Variovorax paradoxus* 5С-2, колонизирующие корневую систему ячменя (*Hordeum vulgare* L.), не только влияли на общее количество низкомолекулярных компонентов корневых экссудатов, но и регулировали их состав. Существенное снижение в корневых экссудатах в условиях кадмиевого стресса количества гамма-аминомасляной кислоты и отсутствие пролина (аминокислот, являющихся общеизвестным маркером стресса у растений) только в экссудатах ячменя, колонизированного Ер-4 или 5С-2, дает основание считать данный эффект одним из механизмов, определяющих антистрессовый эффект штаммов Ер-4 и 5С-2 в условиях токсического действия тяжелых металлов.

Изучены особенности корневой экссудации ячменя в условиях конкурентных взаимоотношений между биоконтрольным штаммом *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 и факультативным фитопатогенным грибом *Fusarium culmorum*. Показано, что экссудаты ячменя, колонизированного ризобактериями, содержат более высокое количество глюкозы и L-триптофана, но более низкое количество ароматических карбоновых кислот, являющихся ингибиторами роста гриба, чем экссудаты стерильного ячменя. Выявленная при этом активная колонизация грибом корней, заселенных ризобактериями, показывает, что биоконтрольный эффект штамма SPB2137 не связан с непосредственным подавлением роста грибного мицелия в ризосфере.

Установлено, что ячмень восприимчивого к фузариозу сорта Вестник характеризуется более высокой интенсивностью корневой экссудации органических кислот, сахаров, аминокислот и ароматических карбоновых кислот, чем экссудаты ячменя устойчивого генотипа к-3454. Колонизация корней ячменя обоих генотипов *F. culmorum* привела к увеличению суммарной экссудации сахаров и ароматических карбоновых кислот только у устойчивого к *F. culmorum* генотипа к-3454. Данные генотипы ячменя представляются перспективной моделью для изучения роли корневых экссудатов в растительно-микробных взаимоотношениях.

Работа поддержана грантами РНФ (22-26-00341, 19-16-00097), РФФИ 18-016-00111.

Обмен доменами как механизм формирования разнообразия и специфичности токсинов C_{ry}

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

¹ Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург

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

Грамположительная спорообразующая бактерия *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) широко используется в качестве агента биоконтроля вредителей сельскохозяйственных растений. Масштабное применение биопрепаратов на основе этой бактерии объясняется высокой специфичностью и эффективностью по отношению к насекомым и другим беспозвоночным вредителям сельского хозяйства, что, во многом, обеспечивается способностью *Bt* синтезировать кристаллические трёхдоменные токсины C_{ry}. В литературе принята гипотеза о том, что адаптация *Bt* обусловлена особенностями эволюции токсинов, заключающейся в обмене третьим доменом, что приводит как к повышению разнообразия токсинов, так и к возможности поражать большее число видов хозяев. Эта гипотеза была подтверждена лишь косвенными данными, полученными при сравнении филогенетических деревьев на основе последовательностей отдельных токсинов, тогда как распространённость подобных обменов и их функциональное значение остаются слабо изученными. С этой целью нами было проведено масштабное исследование по поиску событий рекомбинации в последовательностях токсинов C_{ry}. На первом этапе нами были получены последовательности из баз данных IPG (Identical Protein Group), Genbank, геномных сборок и международного реестра пестицидных белков BPPRC (Bacterial Pesticidal Protein Resource Center) с применением разработанного нами инструмента CryProcessor. Было выявлено 368 рефересных кластеров, треть из которых составляла неизвестные потенциально новые токсины. На основе их последовательностей были получены данные о независимой эволюции отдельных доменов и существенного влияния рекомбинации на топологию деревьев. С помощью программы RDP4 было выявлено 50 событий, характеризующихся обменом каждым из трёх доменов, при этом точки разрыва находились на границе доменов. Половина из рефересных кластеров была представлена участниками рекомбинации: родителями, которые передали домен, а также рекомбинантами. В генах *cry* были обнаружены консервативные участки, фланкирующие точки разрыва. Кроме того, гены *cry* были окружены последовательностями инсерций, позволяя предположить, что данные регионы могут направлять события рекомбинации, приводя к обмену доменами. Сравнение спектра поражаемых хозяев выявило существенную смену активности при передаче доменов вплоть до изменения отрядов. При этом геномные сборки и штаммы, содержащие хотя бы одного потомка рекомбинации содержат значительно больше токсинов, а также способны поражать большее количество видов. Примечательно, что данные штаммы попадают в группы штаммов-генералистов, объединенных общим набором токсинов. Об адаптивном преимуществе подобных обменов говорит и наличие интенсивного

стабилизирующего отбора с преобладанием консервативных сайтов, ассоциированного с получением новых доменов. Таким образом, полученные результаты подтверждают и существенно дополняют общепринятую гипотезу о том, тасовка доменов является одним из основных механизмов эволюции токсинов Cгу.

Работа выполнена при поддержке РФФ 20-76-10044.

Скрининг антибактериальной активности вторичных метаболитов дрожжей в жидкой среде: анализ биоразнообразия для поиска новых антибиотиков

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

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

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

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

Открытие новых антибактериальных соединений является критически важной научной задачей в связи с повсеместным распространением антибиотикорезистентности патогенных бактерий. Биоразнообразие остается одним из источников новых биологически активных веществ. Наше исследование направлено на изучение антибактериальных свойств диких штаммов дрожжей – представителей уникальной коллекции дрожжей и дрожжеподобных грибов Яровой Б.Ф. и Сусловой В. П. [1]. Данная коллекция сформирована в результате четырех научно-исследовательских экспедиций в экстремальные регионы России.

Репортерные бактериальные штаммы являются удобным и широко используемым инструментом в исследованиях, направленных на поиск и изучение молекулярного механизма действия антибактериальных соединений. В нашем исследовании мы применяем репортерную конструкцию, позволяющую идентифицировать соединения, приводящие к активации SOS ответа и соединения, вызывающие остановку процесса трансляции [2].

Авторами работы [2] была разработана методика анализа антибактериальной активности соединений на твердой среде, эффективность которой подтверждена на наборе известных антибиотиков. Мы расширили возможности применения репортерной конструкции и разработали методику количественного анализа в жидкой среде [3]. Эффективность данной методики подтвердили с помощью известных ингибиторов трансляции – гентамицина, хлорамфеникола, фузидовой кислоты,

неомицина, гигромицина Б, канамицина, пурамицина, тетрациклина, эритромицина, стрептомицина – и антибиотиков, ингибирующих SOS ответ – налидиксовой кислоты, левофлоксацина, цiproфлоксацина, рифампицина.

Мы проанализировали группу из 251 образца культуральной жидкости дрожжей с помощью методики определения антибактериальной активности на твердой среде и разработанной нами методики определения антибактериальной активности в жидкой среде. Сравнение данных, полученных с помощью обеих методик, показало ряд преимуществ разработанной нами методики, среди которых выделяется возможность проводить количественные сравнения репортерных сигналов в любой момент времени. Также важно отметить, что метаболическое состояние бактериальных клеток может различаться в жидкости и на твердой среде, следовательно, обе методики являются дополнением друг друга и могут применяться одновременно.

Работа выполнена при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 22-14-00278).

1. Suslov A.V. et al. Radiation Biology. Radioecology. 2004; 44(5): 574-578.
2. Osterman I.A. et al. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Nov 21; 60(12): 7481-7489.
3. Шуленина О. В. и др. Неделя науки СПбПУ: материалы научной конференции с международным участием 19-24 ноября, 2018, С.219- 221.

Изучение метагенома спермы быков

Яцентюк С.П.^{1,2}, Гордеева В.Д.¹, Гнездилова Л.А.²

¹ ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), 123022, Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, 109472, Москва, Россия

В последнее десятилетие идет накопление информации о метагеноме рубца крупного рогатого скота, половых путей коров, изучается микробный состав молока здоровых и маститных коров. При этом информация о метагеномных исследованиях спермы быков стала появляться лишь в последние 2-3 года. Сбор информации о метагеноме спермы является шагом на пути к пониманию сложной системы взаимоотношений между представителями микробной флоры между собой и их влияние на морфофункциональные характеристики сперматозоидов.

Целью работы было получение информации о микробных сообществах спермы быков, используемой в нашей стране для искусственного осеменения.

Нуклеиновые кислоты из 34 образцов спермы быков (10 из российских и 24 – из иностранных племцентров) выделяли с помощью набора QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN). Библиотеку для метагеномных исследований готовили с использованием набора реактивов «Nextera XT». Парно-концевое секвенирование 2*300 п.н. проводили на платформе Illumina MiSeq с использованием набора реагентов «MiSeq 600v3 Reagent Kit» в соответствии с рекомендациями производителя. Для биоинформатического анализа использовали встроенное программное обеспечение Illumina и пакет программ QIIME2.

Полученные данные секвенирования показали невысокую бактериальную обсемененность образцов спермы в сравнении с традиционно анализируемыми образцами для метагеномных исследований, такими как кишечник или образцы фекалий. Среднее значение индекса видового разнообразия Шеннона образцов спермы отечественных быков составило $1,4 \pm 0,12$, а для образцов иностранных быков - $1,3 \pm 0,08$. Расчет t-критерия Стьюдента показал отсутствие статистически значимых различий параметров α -биоразнообразия между этими группами.

В образцах выявлено до 19 известных типов бактерий, однако, только 6 из них (Proteobacteria, Firmicutes, Fusobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Tenericutes) выявлены с частотой выше 5%. Было определено 18 классов бактерий, генетический материал 11 классов обнаружен хотя бы в одном из образцов с частотой, превышающей 5%. В образцах российских быков выявлено до 13, а иностранных - до 15 родов бактерий с содержанием выше 1%. Преобладающим родом для первой группы был *Fusobacterium*, для второй – неидентифицированный род порядка Clostridiales.

Анализ двух групп образцов показал четкие различия во встречаемости основных представителей бактериальной микрофлоры. В образцах спермы российских быков преобладали Fusobacteria и Firmicutes. В сперме иностранных быков преобладающим типом были Proteobacteria. Проведенный в нашей работе метагеномный анализ показал неоднородность состава микробного сообщества в образцах и необходимость дальнейших исследований для выявления связи между составом микробиома и качеством спермопродукции.

ISBN 978-5-00218-475-0



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

Издательство «Перо»
109052, Москва, Нижегородская ул., д. 29-33, стр. 27, ком. 105
Тел.: (495) 973-72-28, 665-34-36
Подписано к использованию 18.07.2023.
Объем 1,8 Мбайт. Электрон. текстовые данные. Заказ 637.