



brc.arriam.ru

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

III МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
**«СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
МИКРООРГАНИЗМОВ»**

Санкт-Петербург, 8-10 июля 2024 г.



300
ЛЕТ СПбГУ



СБОРНИК ТЕЗИСОВ

III МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

«Сохранение и преумножение
генетических ресурсов микроорганизмов»

Санкт-Петербург, 8–10 июля 2024 г.

BOOK OF ABSTRACTS

3-rd INTERNATIONAL CONFERENCE

«Preservation and enhancement
of genetic resources of microorganisms»

Saint Petersburg, July 8-10, 2024

УДК 579.25
ББК 28.440.4я43
С23

С23 Сборник тезисов III Международной конференции «СОХРАНЕНИЕ И ПРЕУМНОЖЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ МИКРООРГАНИЗМОВ».
— Москва: Издательство Перо, 2024. — 2,14 Мб. [Электронное издание].

ISBN 978-5-00244-655-1

В сборнике тезисов III Международной конференции «Сохранение и преумножение генетических ресурсов микроорганизмов» (8-10 июля 2024 г., Санкт-Петербург, Россия) представлены тезисы докладов участников конференции, одобренных программным комитетом. Тезисы опубликованы в авторской редакции. 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 978-5-00244-655-1



СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ ABSTRACTS OF PLENARY LECTURES

Применение методов гражданской науки в микробиологических и генетических исследованиях	
<i>М.Р. Галямова</i>	14
Вакцины и изменчивость возбудителя	
<i>И.В. Должикова</i>	15
Особенности восприимчивости бактерий к антибиотикам в смешанных сообществах	
<i>А.Р. Каюмов</i>	16
Новые противовирусные системы в геномах прокариот	
<i>А.В. Кульбачинский</i>	17
Амилоиды прокариот: патогенез, симбиоз и амилоидные сети	
<i>А.А. Нижников</i>	18
Генетическая структура вида и механизмы формирования природных популяций у агамных групп протистов	
<i>А.В. Смирнов</i>	19
Влияние микробиоты человека на формирование организма как хобобионта	
<i>А.Н. Суворов</i>	20

ТЕЗИСЫ СЕКЦИОННЫХ ДОКЛАДОВ ABSTRACTS OF TALKS

Дерепликация и масс-спектрометрическое профилирование как основной этап исследования природных метаболитов	
<i>В.А. Алферова</i>	22
Перспективы преодоления множественной лекарственной устойчивости бактерий на основе достижений нанотехнологии	
<i>Г.Л. Бурьгин, А.С. Астанкова</i>	23
Оптимизация условий культивирования бактериального штамма-продуцента проинсулина аспарт	
<i>И.А. Корнаков, Е.А. Буслаева, З.Р. Хасанишина</i>	24
Пластичность биосинтеза аргинина у Chlorophyta на примере регуляции N-ацетил-L-глутаматкиназы <i>Dunaliella salina</i>	
<i>В.А. Власова, Т.В. Лапина, Е.В. Ермилова</i>	25



Метабаркодинговые исследования микробных эукариот в экосистемах соленых и гиперсоленых континентальных водоемов России <i>Е.А. Герасимова, А.С. Балкин, В.Я. Катаев, Е.С. Филончикова, Ю.В. Миндолина, Д.В. Тихоненков</i>	26
Бактериофаг <i>Lactococcus</i> phage ВІМ ВV-114: литическая активность, устойчивость к неблагоприятным факторам, генетические особенности <i>А.Д. Герасимович, А.Э. Охремчук, А.В. Сидоренко</i>	27
Механизмы резистентности насекомых к бактериям <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Е.В. Гризанова, И.М. Дубовский</i>	28
Удобрение будущего: биочар в компостировании как средство борьбы с генами устойчивости к антибиотикам <i>Н.В. Данилова</i>	29
Использование генетических технологий для защиты растений от вредителей: от простого трансгенеза до CRISPR/Cas <i>И.М. Дубовский, Е.В. Гризанова</i>	30
Анализ профиля метаболитов ризосферных штаммов <i>Bacillus</i> для подтверждения их пробиотического потенциала <i>И.Ю. Евдокимов, А.Н. Иркитова</i>	31
Геномика морских бактерий: новые таксоны, экологическая роль и биотехнологический потенциал <i>М.П. Исаева</i>	32
Микробный транскриптом филлосферы тимьяна обыкновенного (<i>Thymus vulgaris</i> L.) <i>Е.К. Жаркова, В.М. Казакова</i>	33
Разработка платформы для скрининга комбинаторных библиотек ДНК-кодируемых антимикробных соединений, активных в отношении ESCAPE-патогенов <i>А.И. Калганова, С.О. Путия, И.В. Смирнов, С.С. Терехов</i>	34
Разработка технологии создания биопрепарата на основе синтетического микробного сообщества для защиты растений <i>А.Р. Камалова, Л.Р. Бикташева, Л.Александрова</i>	35
Новая схема молекулярно типирования возбудителя гонококковой инфекции <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>И.Д. Кандинов, А.А. Ларкин, Б.Л. Шаскольский, Д.В. Кравцов, Д.А. Грядунов</i>	36
Филогенетический анализ штаммов <i>Rhizobium laguerreae</i> AMPS, выделенных из почв Испании <i>Е.А. Киричек, А.В. Цыганова, В.Е. Цыганов</i>	37



Бактериопланктон Северного морского пути <i>О.П. Коновалова, Д.А. Юрикова, Ю.А. Папа-Дмитриева, С.В. Лужан, В.О. Калениченко</i>	38
Использование биоинформатических методов для поиска бактериолитических ферментов бациллярных бактериофагов <i>О.Н. Копосова, О.А. Казанцева, А.М. Шадрин</i>	39
Дисперсные повторы в геномах бактерий <i>Е.В. Коротков</i>	40
Изучение потенциала биологических ресурсов удобрений и биопрепаратов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур <i>Ю.В. Косильников, К.Н. Бердышева</i>	41
Гонококковый генетический остров в глобальной популяции <i>N. gonorrhoeae</i>: структура, функции и связь с устойчивостью к антибиотикам <i>Д.В. Кравцов, Б.Л. Шаскольский, Д.А. Грядунов</i>	42
Изучение персистенции бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i> в кишечнике воцинной огневки <i>Galleria mellonella</i> <i>А.А. Круговых, Е.В. Гризанова</i>	43
Создание базы данных генетических последовательностей для идентификации грибов арбускулярной микоризы: необходимость и достаточность <i>А.А. Крюков, А.П. Юрков, А.И. Горенкова, А.О. Горбунова, Ю.В. Лактионов</i>	44
Поиск бактериальных штаммов-деструкторов, перспективных для биоремедиации <i>Е.В. Крючкова, Г.Л. Бурыгин</i>	45
Лабораторная эволюция: итоги 11 лет непрерывного эксперимента на модельном грибе <i>Podospora anserina</i> <i>О.А. Кудрявцева, А.А. Гаспарян, С.М. Агроскин, М.А. Белозерский, Я.Е. Дунаевский</i>	46
Новые представители рода <i>Vibrio</i>, выделенные из морской полихеты <i>Chaetopterus cautus</i> <i>В.В. Куриленко, Н.Ю. Отставных, Д.О. Личманюк, М.П. Исаева</i>	47
Скорость деструкции и оценка разнообразия сообщества деструкторов липового валежа в условиях смешанного леса зоны южной тайги <i>П.А. Курынцева, Д.В. Тишин, К.О. Потапов, С.Ю. Селивановская</i>	48
Роль специализированной микробной коллекции ИЭГМ в развитии ресурсного потенциала экобиотехнологии <i>И.Б. Ившина, М.С. Куюкина</i>	49



Секвенирование и анализ генома штамма <i>Aeromonas veronii</i> БИМ В-1812 – возбудителя аэромоноза рыб	
<i>С.И. Леонович, А.Э. Охремчук, Е.В. Максимьюк, С.М. Дегтярик, А.В. Сидоренко</i>	50
Экстраклеточные низкомолекулярные фосфонаты пектобактерий как факторы, определяющие состояние растительно-микробной патосистемы	
<i>О.И. Парфирова, О.Е. Петрова, Е.Д. Сыромятникова, А.В. Смолочкин, В.Ю. Горшков</i>	51
Характеристика новых плазмид природных штаммов рода <i>Pseudomonas</i>	
<i>М.А. Петрова, М.М. Ликанэ</i>	52
Исследование бактериального разнообразия кишечника Дальневосточного трепанга (<i>Apostichopus japonicus</i>)	
<i>Е.О. Писарева, Е.А. Богатыренко, Т.И. Дункай</i>	53
Метагеномные сборки геномов показали биотехнологический потенциал микроорганизмов гиперсоленых озер Крыма	
<i>Д.В. Пошвина, Е.А. Герасимова, С.В. Кравченко</i>	54
Метилотрофные микроорганизмы в составе эпифитной микрофлоры растений природных и антропогенных ландшафтов Карелии	
<i>А.И. Савушкин</i>	55
Глутамин-N,N-диуксусная кислота - новый хелатирующий агент для удобрений: биоразлагаемость, влияние на растения и их эндосферный микробиом	
<i>Г.Ш. Галиева, П.А. Курынцева, П.Ю. Галицкая, С.Ю. Селивановская</i>	56
Штамм бактерий <i>Acinetobacter johnsonii</i> А1 для повышения урожайности зерновых культур	
<i>М.Л. Сидоренко</i>	57
Структурная организация ассоциативного симбиоза на примере интестинальной микрофлоры радужной форели	
<i>Н.А. Сидорова, А.И. Савушкин</i>	58
Выживание в организме хозяина: протеогеномное исследование адаптивных свойств клинических изолятов <i>Mycoplasma hominis</i>	
<i>К.В. Сикамов, О.В. Побегуц, М.А. Галямина, Д.Р. Уразаева, А.С. Авшалумов, М.В. Михайлычева, В.В. Бабенко, И.П. Смирнов, А.Ю. Горбачев</i>	59
Влияние инокуляции штамма <i>Stenotrophomonas rhizophila</i> GMG1156 на рост и экспрессию генов пшеницы в условиях абиотического стресса	
<i>Е.А. Соколова, И.Н. Тромениллегер, Е.В. Чуманова, О.В. Мишукова, И.В. Хлистул, Е.Н. Воронина</i>	60



РН-независимый контроль активности N-ацетил-L-глутаматкиназы <i>Ostreococcus tauri</i> <i>В.Р. Стаинов, Т.В. Лапина, Е.В. Ермилова</i>	61
Микробиологический состав зоогумуса <i>Tenebrio molitor</i> <i>Г.И. Сутула, С.И. Лоскутов</i>	62
Структурно-функциональная характеристика Svx металлопротеаз – факторов вирулентности фитопатогенных пектолитических бактерий <i>Н.В. Тендюк, А.А. Дьяконова, О.Е. Петрова, Т.А. Мухаметзянов, О.Н. Макшакова, В.Ю. Горшков</i>	63
Создание транспластомных штаммов <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>, продуцирующих рекомбинантные двуцепочечные РНК против вредителей <i>А.К. Турсунова, Ю.М. Ефремова</i>	64
Молекулярная характеристика и скрининг сгу генов на основе ПЦР штаммов <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>А.К. Турсунова, Ш.М. Турбекова, А. Айнур, Б.А. Дуйсембеков</i>	65
Биотехнологический потенциал полисахаридов галофильных бактерий соленых озер <i>Ю.П. Федоненко, Н.С. Величко, М.С. Кузина, Е.Н. Сигида, В.С. Гринев, С.А. Коннова</i>	66
Разработка, характеристика и трансфер банков клеток штаммов-продуцентов биотехнологических продуктов на примере <i>E.coli</i> <i>З.Р. Хасанишина, Е.А. Буслаева, Л.М. Кряжевских</i>	67
Микробиом засухоустойчивых растений как резервуар биотехнологически ценных эндофитных бактерий <i>В.К. Чеботарь, И.А. Тихонович</i>	68
Бактериофаг <i>Kirovirus kirovense</i> Kirov и его способность защищать молоко от контаминации <i>Bacillus cereus sensu lato</i> <i>О.А. Казанцева, А.В. Скорынина, Э.Г. Пилигримова, Н.А. Рябова, А.М. Шадрин</i>	69
Видовое разнообразие и ультраструктурные особенности цианобактерий в составе симбиоза с лишайными мхами и после выделения их в культуру <i>К.А. Шибзухова, Г.Б. Бутаева, Т.А. Федоренко, А.А. Зайцева, О.А. Горелова, Е.С. Лобакова</i>	70
Анализ инсектицидного потенциала <i>Serratia marcescens</i> методом пангеномного анализа <i>А.Е. Шиков, Е.В. Гризанова, А.А. Нижников, К.С. Антонец</i>	71
Механизмы взаимодействия грибов арбускулярной микоризы с растениями: генетические маркеры симбиотической эффективности и создание коллекции <i>А.П. Юрков, А.А. Крюков, Ю.В. Лактионов, Ю.В. Косильников, А.О. Горбунова, Т.Р. Кудряшова, А.И. Ковальчук, А.И. Горенкова</i>	72



Скрининг полифункциональной активности штаммов микромицетов - основа для создания препаратов комплексного действия для защиты растений <i>Е.Н. Янковская, Д.В. Войтка</i>	73
---	----

ТЕЗИСЫ ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ ABSTRACTS OF POSTER PRESENTATIONS

Микробиомы залежных агропочв Северо-Запада России: экологические функции и потенциал <i>Е.В. Абакумов, А.К. Кимеклис, Г.В. Гладков, Е.Е. Андронов</i>	75
Метаболический потенциал конверсии гербицидов у бактериальных изолятов загрязненных территорий <i>Л.Г. Анисимова</i>	76
Биологически активные минеральные удобрения, содержащие полезные штаммы эндофитных бактерий для повышения коэффициента их использования <i>М.Е. Баганова, В.К. Чеботарь, А.Н. Заплаткин, М.С. Ганчева, В.Н. Пищик, О.В. Келейникова, Е.П. Чижевская</i>	77
Скрининг природных изолятов <i>Yarrowia lipolytica</i>, перспективных продуцентов многоатомных спиртов <i>О.А. Бесчастных, М.О. Таратынова, С.П. Синеокий</i>	78
Противовоспалительный эффект щелочной фосфатазы <i>StAR</i> из морской бактерии <i>Cobetia amphilecti</i> КММ 296 при язвенном колите у мышей <i>Г.А. Бондарев, Л.В. Слепченко, А.В. Сейткалиева, Л.А. Балабанова</i>	79
Генетические особенности хозяйственно-ценного вида дрожжей <i>Saccharomyces bayanus</i> <i>А.Н. Боровкова, Е.С. Наумова</i>	80
Секвенирование и сравнительный анализ генома бактерии <i>Lacinutrix</i> sp. КММ 9891, выделенной из донных осадков Охотского моря <i>Е.П. Быстрицкая, Л.А. Романенко, В.И. Еремеев, С.Н. Балдаев, М.П. Исаева</i>	81
Биохимическая характеристика новых штаммов <i>Bacillus</i> spp., перспективных для включения в биопрепарат для животноводства <i>Д.Е. Дудник</i>	82
Перспективы применения эндофитного штамма <i>Bacillus amiloliquefaciens</i> P20 для повышения продуктивности картофеля и его защиты от ризоктониоза <i>А.Н. Заплаткин, В.К. Чеботарь, О.В. Келейникова, М.Е. Баганова, А.М. Лазарев, А.В. Хютти, А.А. Быстрицкий</i>	83
Биотехнологический потенциал бактерий рода <i>Bacillus</i> sp., выделенных из ризосферы растений <i>А.Н. Иркитова</i>	84



Микробиологический препарат на основе эндофита <i>Bacillus amyloliquifaciens</i> V417 для защиты сельскохозяйственных культур от болезней <i>О.В. Келейникова, В.К. Чеботарь, М.Е. Баганова, А.Н. Заплаткин, В.Н. Пищик, Е.П. Чижевская</i>	85
Исследование разнообразия бактериофагов лактококков на молокоперерабатывающих предприятиях Республики Беларусь <i>Е.С. Климович, Е.Н. Бирюк, Н.Н. Фурик</i>	86
Тест-система на основе последовательности гена <i>nodX</i> для оценки конкурентоспособности штамма ТОМ <i>Rhizobium leguminosarum</i> в полевых условиях <i>М.С. Клюкова, Е.А. Алексеева, В.А. Ракова, А.И. Жернаков, А.С. Сулима, И.А. Тихонович, В.А. Жуков</i>	87
Изучение ростостимулирующей и фунгицидной активности бактериальных штаммов аборигенной микрофлоры почв Самарканда <i>Ю.В. Лактионов, А.И. Ковальчук, З.Ф. Исмоилов, Ш.У. Аханбаев</i>	88
Исследование микроорганизмов, выделенных из донных отложений Обской губы <i>В.А. Леонов, Л.Э. Беллендир</i>	89
Отбор генотипов томата по эффективности взаимодействия с почвенной микрофлорой <i>Н.А. Некрашевич, А.В. Кильчевский</i>	90
Микробиом мерзлотных почв и грунтов Арктики <i>Т.И. Низамутдинов, С.Ю. Евграфова, С. Янг</i>	91
Анализ влияния стрессовых факторов на дифференцировку бактериоидов в клубеньках <i>Glycine max</i> и <i>G. soja</i> <i>В.С. Перцев, А.Б. Китаева, В.Е. Цыганов</i>	92
Идентификация пигментирующих бактерий из вторичного сырья сельского хозяйства <i>А.О. Причепя, Н.Ю. Шарова</i>	93
Разработка метода оценки эффективности протекторных соединений для повышения устойчивости дрожжей к обезвоживанию <i>Е.А. Провоторова, А.А. Колосова, Д.Ю. Федосов</i>	94
Биоразнообразие и свойства лактобацилл, выделенных из организма пчел и пчелопродуктов <i>Н.С. Романович, Е.Н. Бирюк, Т.А. Савельева, Н.К. Жабанос</i>	95
Полный геном высокоинсектицидного штамма <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> 800/15 <i>Ю.А. Савина, А.Е. Шиков, М.Н. Романенко, А.А. Нижников, К.С. Антонец</i>	96



Биоинженерный подход к разработке бактериоцинов <i>А.М. Сенина, О. Дьяченко, А.Н. Некрасов, М.В. Александрова, А.В. Гарковенко, Т.В. Григорьева, В.В. Радченко</i>	97
Полный геном пчелиного улья: функции и пути передачи микроорганизмов <i>Д.В. Смутин, А.Х. Тальдаев, Е.Е. Лебедев, Л.С. Адонин</i>	98
Выделение и идентификация бактерий рода <i>Leuconostoc</i> из образцов сырого молока <i>А.А. Соглаева, Е.Н. Бирюк, Н.К. Жабанос, А.А. Лабкова</i>	99
Иммунный ответ, кишечная микробиота и восприимчивость к бактериям <i>Bacillus thuringiensis</i> у личинок колорадского жука из разных частей ареала <i>Д.С. Терещенко</i>	100
Амилоидные свойства поринов OmpC и OmpF <i>Escherichia coli</i> и <i>Salmonella enterica in vivo</i> <i>Х. Фаюд, М.В. Белоусов, К.С. Антонец, М.И. Сулацкий, А.И. Сулацкая, А.А. Нижников</i>	101
Эндофитные бактерии засухоустойчивых растений для контроля биотических и абиотических стрессов <i>М.В. Худяева, В.К. Чеботарь, М.Е. Баганова, О.В. Келейникова, А.В. Ерофеева, О.С. Юзихин, Е.П. Чижевская, И.А. Тихонович</i>	102
Метагеномный анализ тихих вин в диагностике возбудителей их порчи <i>Д.Р. Хуснутдинова, А.М. Сенина, М.И. Маркелова, В.В. Радченко, О.В. Дьяченко, Е.С. Жебеленко, Е.В. Смирнова, М.В. Александрова, А.В. Гарковенко, Т.В. Григорьева</i>	103
Пространственное распределение сапрофитных бактерий в водоемах бассейна Ладожского озера <i>Н.А. Чечкова</i>	104
Байкальский оксифильный штамм <i>Janthinobacterium</i> sp. как источник природных соединений для репродуктивной медицины <i>В.Н. Шелковникова, М.Е. Дмитриева, А.Ю. Бельищенко, Н.А. Имидоева, А.А. Власова, Т.Ю. Тельнова, Д.В. Аксёнов-Грибанов</i>	105
Поиск дегидрогеназ, ответственных за катаболизм сорбитола в дрожжах <i>Yarrowia lipolytica</i> <i>А.М. Шумрикова, М.О. Таратынова, Е.Ю. Юзбашева, С.П. Синеокий</i>	106
Исследование влияния дрожжей на ароматический профиль красных сухих вин из сорта винограда Каберне Совиньон <i>Т.А. Шутова, А.А. Колосова, В.М. Пожидаев, А.В. Камаев, Е.А. Провоторова, Д.Ю. Федосов</i>	107



Бактериальная и микромицетная контаминация представителей секции <i>Siphisia</i> (род <i>Aristolochia</i>)	
<i>Е.П. Юсупова, Е.А. Богатыренко, О.В. Наконечная</i>	108
Сравнение вирулентности подвидов бактерий <i>Bacillus thuringiensis</i> по отношению к различным отрядам насекомых	
<i>Е.А. Якимчук, Е.В. Гризанова</i>	109
Микробиологическая характеристика многолетнемерзлых отложений в районе Батагайского термокарста	
<i>П.М. Яковлева, М.А. Петрова</i>	110

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF PLENARY LECTURES



Применение методов гражданской науки в микробиологических и генетических исследованиях

М.Р. Галямова

Инфраструктурный центр «Хэлснет», г. Новосибирск, Россия

Актуальным решением по модернизации современного Российского образования является введение в образовательную практику методов и технологий исследовательской и проектной деятельности обучающихся. В России внедряются новые подходы к обучению студентов, основанные на проведении так называемых массовых экспериментов. Citizen science означает исследования, с участием ученых – любителей (или непрофессионалов).

Целью представляемого исследования было проанализировать антибиотикорезистентность микроорганизмов и микробных сообществ, ассоциированных с сельскохозяйственными животными с помощью метода citizen Science. Проект вызвал заметный энтузиазм, что привело к большому числу участников проекта, а также большому числу собранных и проанализированных образцов. Полученные данные демонстрируют, что с помощью базового оборудования члены научного сообщества (граждане-ученые) могут проводить сбор и анализ образцов.



Вакцины и изменчивость возбудителя

И.В. Должикова

Лаборатория Государственной коллекции вирусов, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения РФ

С момента создания первой вакцины прошло уже более 200 лет и сегодня трудно переоценить влияние вакцинации на историю человечества. Внедрение вакцин в клиническую практику позволило значительно сократить заболеваемость и смертность от инфекционных заболеваний по всему миру. Однако пока человек разрабатывает и внедряет вакцины, патогены «разрабатывают и внедряют» свои способы ухода от иммунного ответа хозяина. В докладе будут освещены важные вопросы гонки вооружений между иммунной системой хозяина и возбудителями, а также особенности разработки вакцин в условиях изменчивости возбудителя.



Особенности восприимчивости бактерий к антибиотикам в смешанных сообществах

А.Р. Каюмов

НИЛ «Молекулярная генетика микроорганизмов», Институт фундаментальной медицины и биологии КФУ, г. Казань, Россия

В последние годы все больше данных свидетельствуют о том, что очень часто в развитии инфекции принимает участие не один, а несколько патогенов, которые в свою очередь вступают в антагонистические или синергетические отношения как с собой, так и с микробиотой хозяина. В свою очередь, это влияет на восприимчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам, а также агрессивность в отношении организма хозяина. Понимание механизмов и последствий межвидовых взаимодействий бактерий в консорциумах позволит скорректировать рекомендации по антимикробной терапии в зависимости от состава инфекции.

В докладе приводятся данные по изменению чувствительности бактерий в составе смешанных сообществ к антимикробным препаратам, особенностям структуры, состава матрикса двувидовых биопленок и их проницаемости для антибиотиков. Обсуждаются механизмы этих изменений и практическое значение для медицины.



Новые противовирусные системы в геномах прокариот

А.В. Кульбачинский

Лаборатория иммунных систем прокариот, Институт биологии гена
Российской академии наук, г. Москва, Россия

Постоянная гонка на выживание между микроорганизмами и вирусами является одним из определяющих факторов эволюции прокариот. Исследования последних лет позволили обнаружить в геномах бактерий и архей огромный арсенал иммунных систем, обеспечивающих противовирусную защиту на разных стадиях инфекции. Защитные системы прокариот уже послужили источником наиболее важных инструментов генетической инженерии и геномного редактирования. В то же время, механизмы действия большинства иммунных систем остаются неисследованными. В докладе будут рассмотрены основные подходы к поиску и исследованию новых систем иммунитета, в том числе, на примере белков-аргонатов и связанных с ними эффекторов. Дальнейший анализ разнообразия иммунных систем прокариот необходим для понимания механизмов их действия, их роли в эволюции и применения в биотехнологиях.



Амилоиды прокариот: патогенез, симбиоз и амилоидные сети

А.А. Нижников^{1,2,*}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), Университетская наб. 7-9-11

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), Пушкин, Подбельского ш. 3

Амилоидами называют белковые фибриллярные агрегаты с особой пространственной структурой, придающей им необычную устойчивость к действию протеаз, детергентов и различных физико-химических факторов. Амилоиды известны уже около двух веков благодаря их связи с развитием амилоидозов, преимущественно неизлечимых заболеваний, сопровождающихся формированием патологических белковых агрегатов в различных тканях и органах человека и животных. Вместе с тем открытия двух десятилетий XXI века убедительно показали, что амилоиды являются важным функциональным вариантом надмолекулярной организации белков. Функциональные амилоиды были обнаружены у представителей всех трех доменов живого мира, от архей до человека, но наибольшее разнообразие функциональных амилоидов описано у бактерий. Амилоиды бактерий вовлечены в целый ряд процессов, опосредующих развитие бактериальных инфекций, включая формирование биопленок, хранение токсинов, преодоление поверхностного натяжения среды. В недавних исследованиях нашего коллектива описаны функциональные амилоиды растений и показано, что клубеньковые бактерии, вступающие во взаимовыгодные симбиотические отношения с бобовыми растениями, также продуцируют амилоиды. Более того, различные амилоидные белки бактерий и растений имеют сходную пространственную структуру типа «бета-бочка» и способны влиять на агрегацию друг друга, а также на агрегацию нескольких патологических амилоидов человека. Все это позволяет предполагать наличие сложной «сети» взаимодействующих амилоидов, в которые могут быть вовлечены как амилоиды организма-хозяина, так и патогенов или симбионтов, а также амилоиды, присутствующие во внешней среде и попадающие в организм, например, в составе пищевых продуктов.

Работа выполнена при поддержке СПбГУ, шифр проекта 124032000041-1. Работа выполнена с использованием оборудования Научного парка СПбГУ и ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.



Генетическая структура вида и механизмы формирования природных популяций у агамных групп протистов

А.В. Смирнов

Кафедра зоологии беспозвоночных, Санкт-Петербургский государственный университет,
г. Санкт-Петербург, Россия

Популяционная структура микроскопических одноклеточных эукариот – протистов – отличается от таковой у высших организмов. Большинство видов протистов формируют метапопуляции. При этом в локальных местообитаниях они достаточно эфемерны; вспышки численности при благоприятных условиях могут сменяться длительными периодами низкой численности активных особей или существования вида исключительно в состоянии покоящихся стадий (цист). Все это существенно затрудняет изучения разнообразия протистов в природных местообитаниях. Методы молекулярной экологии, показали, что ключевой проблемой, в особенности для агамных групп, является генетическая структура вида. Необходимо понять, что мы вообще полагаем «видом» у этих групп, какой уровень генетической изменчивости еще можно считать «внутривидовым», а какой – вероятно соответствует формированию видов-двойников (sibling species). Все это в первую очередь требует понимания генетической структуры вида. В докладе будут рассмотрены проблемы генетической структуры вида у агамных групп протистов и особенности их популяционной структуры в локальном и глобальном масштабе, а также связанные с ней модели и механизмы формирования видового разнообразия протистов в природных местообитаниях.



Влияние микробиоты человека на формирование организма как холобионта

А.Н. Суворов^{1,2}

¹ Отдел молекулярной микробиологии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»,
г. Санкт-Петербург, Россия

² Кафедра фундаментальной медицины и медицинских технологий, Санкт-Петербургский
государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия

Для успешного и полноценного функционирования и реализации всех функций органов и систем человека, состояние микробиоты является крайне важным. Нарушения в структуре питания, образе жизни или особенности терапии нередко проявляются, с одной стороны в ухудшении здоровья человека и развитии многих соматических патологий, а с другой стороны — в микробном дисбалансе или дисбиозе. В докладе будут освещены особенности дисбиотических состояний при различных патологиях, таких как диабет, атеросклероз или рак. Будут раскрыты также перспективы и способы восстановления баланса микробиоты человека при дисбиозах.

ТЕЗИСЫ СЕКЦИОННЫХ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF TALKS



Дерепликация и масс-спектрометрическое профилирование как основной этап исследования природных метаболитов

В.А. Алферова^{1}*

¹ Институт биоорганической химии им М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10
* e-mail: alferovava@gmail.com

Природные соединения остаются важным источником новых лекарственных препаратов [1], в том числе антимикробных. Исследование молекулярного механизма действия природных соединений играет ключевую роль в их дальнейшем применении. Даже природные соединения, не имеющие клинических перспектив, могут служить источником новых привлекательных мишеней для разработки синтетических биоактивных молекул. Кроме того, для получения полусинтетических производных необходима подробная информация о механизмах действия и цитотоксичности. Исследование путей биосинтеза природных соединений позволяет расширять их химическое разнообразие с помощью генетических модификаций. В случае биологически активных соединений даже малейшие структурные различия могут привести к кардинальным изменениям в биологической активности, что делает актуальным накопление информации о различиях в свойствах близких по структуре соединений.

За последние несколько десятилетий исследование микробных метаболитов с использованием стандартной платформы, введенной Зельманом Ваксманом в начале 20-го века, постепенно снизилась. В настоящее время существует ряд современных и развивающихся тенденций в области скрининга и идентификации природных биоактивных соединений [2]. Методы в этой междисциплинарной области можно разделить на три группы: основанные на микробиологии (например, культивирование *in situ*, микрофлюидика и исследование необычных местообитаний), химии (например, дерепликация и МС-профилирование) и молекулярной биологии (например, метагеномика и репортерные штаммы) [2]. Среди этих тенденций совершенствование подходов к быстрой идентификации ранее описанных соединений играет ключевую роль в эффективном исследовании природных соединений.

Литература

1. Newman D.J.; Cragg G.M. *J. Nat. Prod.* 2020, 83, 770–803.
2. Baranova A.A.; Alferova V.A.; Korshun V.A.; Tyurin A.P. *Life* 2023, 13, 1073.



Перспективы преодоления множественной лекарственной устойчивости бактерий на основе достижений нанотехнологии

Г.Л. Бурьгин^{1,2*}, А.С. Астанкова^{1,2}

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН», Саратов, Россия

² Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

* e-mail: burygingl@gmail.com

В связи с широким применением в медицине и ветеринарии различных антибиотиков в большинстве естественных биоценозов стали преобладать резистентные штаммы. Особое внимание исследователей привлекают микроорганизмы, обладающие множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Для данных бактерий описано функционирование системы эффлюкса широкой специфичности к антибиотикам, имеющей сходное строение с системами эффлюкса различных катионов тяжёлых металлов. На основе сходства строения и функционирования двух систем эффлюкса предложено использование низких концентраций тяжёлых металлов, в том числе новых металлорганических антибиотиков, для преодоления МЛУ бактерий. Также описана потенциальная способность нанокластеров металлов через взаимодействие с белком TolC блокировать эффлюкс антибиотиков из бактериальных клеток.

В данной работе на примере штамма *Achromobacter insolitus* LCu2 было проведено исследование устойчивости к антибиотикам разных классов и различным тяжёлым металлам. Была выявлена чувствительность штамма LCu2 к ионам серебра и высокая резистентность к ионам Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} и других металлов. Внесение нанокластеров серебра в среду, не содержащую токсикантов, не оказывало влияния на рост бактерий. Однако присутствие нанокластеров серебра в среде культивирования в 10-40 снижало устойчивость штамма LCu2 к ионам тяжёлых металлов. Подобные результаты были получены и в отношении устойчивости штамма LCu2 к антибиотикам. Так, в отношении эритромицина штамм LCu2 оказался умеренно чувствительным, а при совместном использовании антибиотика и нанокластеров серебра – чувствительным.

Таким образом, присутствие в среде нанокластеров серебра значительно снижает устойчивость бактерий к тяжёлым металлам и антибиотикам, что может быть использовано при подавлении роста бактерий с МСУ.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00520, <https://rscf.ru/project/24-24-00520/>.



Оптимизация условий культивирования бактериального штамма-продуцента проинсулина аспарт

И.А. Корнаков¹, Е.А. Буслаева^{1}, З.Р. Хасаншина¹*

¹ ООО «ГЕРОФАРМ», г. Санкт-Петербург, РФ

* e-mail: Evgeniia.Buslaeva@geropharm.com

По прогнозам International Diabetes Federation, число пациентов с диабетом возрастет до 643 миллионов человек к 2030 году. Большинству пациентов на постоянной основе необходимы инсулины быстрого действия, такие как инсулин аспарт. Таким образом, разработка высокоэффективного процесса производства инсулина и его аналогов особенно актуальна. Целью работы являлась разработка продуцента инсулина аспарт и увеличение выходов гибридного белка на этапе культивирования. Рост штамма-продуцента и биосинтез рекомбинантного белка являются сложными и многофакторными процессами. Применение подхода Design of Experiments (DoE) позволяет минимизировать количество экспериментов при разработке процесса ферментации. Мы разработали и получили генетическую конструкцию, обеспечивающую высокий выход гибридного белка (ГБ) проинсулина аспарт при экспрессии в *E.coli* BL21. Для оптимизации выбрали pH, температуру, длительность индукции, концентрация индуктора, OD индукции. В качестве откликов выбрали: удельную продуктивность, массу влажного осадка клеток, объемную продуктивность.

Полученные модели предсказали оптимальные условия культивирования при: pH 6,5, температура 35°C, длительность индукции 6 ч, OD индукции 23 ЕД. Концентрация индуктора оказалась оптимальной во всем исследуемом диапазоне. Полученная модель является точной (R2-0,926) и с приемлемой предсказательной способностью (Q2-0,804). Значения pH и температуры являются оптимальными для роста штамма-продуцента. Значение OD600 соответствует середине логфазы, когда клетки накопили достаточное количество биомассы и проявляют максимальную метаболическую активность, что позволяет им активно начать биосинтез ГБ при внесении индуктора. Объемная продуктивность при культивировании в ферментере была увеличена на 60% по сравнению с классическими условиями культивирования штаммов *E.coli* BL21.

По результатам работы был разработан штамм-продуцент проинсулина аспарт, оптимизированы условия биосинтеза ГБ. Объемная продуктивность была повышена на 60%.



Пластичность биосинтеза аргинина у *Chlorophyta* на примере регуляции N-ацетил-L-глутаматкиназы *Dunaliella salina*

В.А. Власова^{1*}, Т.В. Лапина¹, Е.В. Ермилова¹

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

* e-mail: derkachvita99@gmail.com

Dunaliella salina – галофильная одноклеточная зеленая водоросль, обитающая в гипергалинных водоемах. Хотя многие механизмы адаптации *D. salina* к высокой солености среды изучены, до сих пор не анализировалось, как осуществляется регуляция биосинтеза аргинина (Arg). Поскольку у цианобактерий и представителей Archaeplastida ключевым ферментом в контроле биосинтеза Arg является N-ацетил-L-глутаматкиназа, то нами были проанализированы свойства этого фермента у *D. salina* (DsNAGK). Как и другие, чувствительные к действию Arg NAGK, активность DsNAGK активируется NAG и ингибируется Arg (IC₅₀, 0,29 мМ). Однако, в отличие от проанализированных цианобактерий и Archaeplastida, сигнальный белок PII *D. salina* (DsPII) не ослаблял ингибиторное действие Arg на DsNAGK. Кроме того, в гетерологичных экспериментах, DsPII не влиял на активность NAGK *Chlamydomonas reinhardtii*. Напротив, белок PII *C. reinhardtii* продемонстрировал ослабление ингибирования DsNAGK аргинином по принципу обратной связи. Таким образом, DsPII ответственен за изменение свойств комплекса. Получение и анализ белка DsPII с заменой двух аминокислот, прилегающих к Q-петле, предполагает вовлечение в механизм глутамин-зависимого контроля белком PII N-ацетил-L-глутаматкиназы не только Q-петли, как считали ранее.

Следует отметить, что у *D. salina* орнитин является предшественником биосинтеза не только Arg, но также путресцина и пролина, которые выполняют осмопротекторные функции. Уровни свободного внутриклеточного Arg и путресцина/пролина контролируются в реципрокной манере: максимальные концентрации Arg фиксируются при минимальных уровнях путресцина и пролина (при 0,1М NaCl) и наоборот (при 1,5 М и 2,5 М NaCl). Выявленные особенности биосинтеза Arg у *D. salina*, по нашему мнению, отражают общую стратегию в адаптации водоросли к высокой солености среды и дополнительно подтверждают высказанную идею о пластичности регуляции биосинтеза Arg у *Chlorophyta*.



Метабаркодинговые исследования микробных эукариот в экосистемах соленых и гиперсоленых континентальных водоемов России

Е.А. Герасимова^{1}, А.С. Балкин², В.Я. Катаев², Е.С. Филончикова², Ю.В. Миндолина²,
Д.В. Тихоненков^{1,3}*

¹ Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия

² Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, г. Оренбург, Россия

³ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, п. Борок, Россия

* e-mail: ea-ermolenko@yandex.ru

Соленые и гиперсоленые водоемы представляют собой одну из самых своеобразных экосистем на нашей планете и характеризуются высокими значениями солености, низкими значениями концентраций кислорода и нестабильностью гидрологического режима. Гиперсоленые водоемы широко распространены по всему земному шару, относятся к одним из наиболее экстремальных местообитаний, обеспечивающих разнообразные экологические ниши для широкого спектра организмов из трех доменов жизни. Долгое время в исследованиях гиперсоленых местообитаний основное внимание уделялось археям и бактериям, в то время как разнообразие протистов оставалось слабоизученным. Технологии секвенирования образцов ДНК из окружающей среды предоставили беспрецедентные данные о разнообразии и экологии микробных эукариот и изменили наше понимание об их разнообразии. Высокопроизводительное секвенирование молекулярных маркеров из образцов окружающей среды, или метабаркодинг, произвело революцию в исследованиях биоразнообразия и продемонстрировало, насколько разнообразную и уникальную совокупность биоты в экстремальных местообитаниях представляют протисты.

В настоящем исследовании мы представили данные метабаркодинговых исследований планктонных сообществ микробных эукариот в экосистемах соленых и гиперсоленых водоемов (2-390 г/л) России и оценили их таксономическое и функциональное разнообразие. Результаты исследования продемонстрировали, что детерминирующим фактором, влияющим на таксономическое и функциональное разнообразие сообществ протистов, является соленость, увеличение которой сопровождается уменьшением сложности сети сообществ микробных эукариот и смещением функционального разнообразия в сторону автотрофов. Также продемонстрировано, что метабаркодинг является эффективным методом детекции паразитических таксонов протистов и оценки потенциальных ассоциаций паразит-хозяин.

Исследования выполнены при поддержке Правительства Тюменской области в рамках проекта Западно-Сибирского межрегионального НОЦ 89 ДОН (2).



Бактериофаг *Lactococcus* phage BИM BV-114: литическая активность, устойчивость к неблагоприятным факторам, генетические особенности

А.Д. Герасимович^{1}, А.Э. Охремчук¹, А.В. Сидоренко¹*

¹ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

* e-mail: alexandra_88@tut.by

Бактериофаги, инфицирующие заквасочные культуры *Lactococcus lactis*, являются одной из основных причин сбоя ферментации при производстве кисломолочных продуктов. Всестороннее изучение биологических особенностей фагов лактококков, циркулирующих на молочных заводах, необходимо для разработки эффективных методов контроля их численности в производственных условиях.

Бактериофаг *Lactococcus* phage БИМ BV-114, выделенный из сырного рассола промышленного производства, относится к роду *Cedrovirus*, представители которого наиболее часто обнаруживаются на молочных заводах Беларуси, и характеризуется высокой скоростью лизиса (время лизиса – 90 мин, латентный период – 25 мин). Анализ спектра хозяев фага БИМ BV-114 показал, что он инфицирует 10 из 109 коллекционных штаммов *L.lactis*, хотя образование зон лизиса (без формирования негативных колоний) наблюдается для 34 штаммов. Исследуемый фаг устойчив к действию высоких температур (активен при прогревании при 90 и 95°C в течение 8 и 5 мин, соответственно), дезинфицирующих средств (этанол, изопропанол, хлоргексидин) и УФ-излучения (15 мин).

Геном фага БИМ BV-114 представлен линейной двухцепочечной ДНК размером 21 499 п.н. По данным филогенетического анализа полногеномных последовательностей, бактериофаг относится к подгруппе c2 и входит в один кластер с 10 фагами, выделенными из сырного рассола промышленного производства в различных географических регионах. Отмечен высокий уровень сходства нуклеотидных последовательностей некоторых генов БИМ BV-114 с типовыми фагами c2 и bIL67, а также другими представителями рода *Cedrovirus*, циркулирующими на молокоперерабатывающих предприятиях. В то же время область генов, кодирующая белки, предположительно отвечающие за высокую термоустойчивость фага и его связывание с рецептором на поверхности бактериальной клетки, более вариабельна.

Полученные результаты дополняют имеющиеся данные о бактериофагах рода *Cedrovirus* и их адаптационных возможностях.



Механизмы резистентности насекомых к бактериям *Bacillus thuringiensis*

Е.В. Гризанова^{1*}, И.М. Дубовский¹

¹ ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, Новосибирск, Россия

* e-mail: katalasa_2006@yahoo.com

Резистентность насекомых один из ключевых аспектов снижения эффективности биологических препаратов на основе бактерий *Bacillus thuringiensis*. Устойчивость насекомых к токсинам бактерий в трансгенных растениях или биопрепаратах может быть обусловлена молекулярными механизмами устойчивости, которые связаны с мутациями генов рецепторов насекомых, необходимых для патогенного действия токсина. Однако, на сегодняшний день показано, что иммунный ответ насекомых, микрофлора и репарационные процессы в кишечнике, а также эпигенетические механизмы наследования, вносят вклад в эволюцию резистентности насекомых к бактериям *B. thuringiensis* и их токсинам. Воздействие на иммунный ответ и механизмы устойчивости насекомых к бактериям и их токсинам может помочь повысить эффективность биологических препаратов для защиты растений от вредителей. К таким подходам относят использование ингибиторов иммунного ответа, индукторов окислительного стресса, наночастиц, аналогов гормонов насекомых, РНК-интерференции, а также поиск новых штаммов и повышение вирулентности широко используемых подвидов бактерий *B. thuringiensis*. В докладе будут представлены основные результаты исследований по изучению иммунного ответа насекомых при заражении и селекции насекомых на устойчивость к бактериям *B. thuringiensis*, а также подходы по снижению резистентности насекомых.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-16-00113.



Удобрение будущего: биочар в компостировании как средство борьбы с генами устойчивости к антибиотикам

*Н.В. Данилова¹**

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия
* e-mail: natasha-danilova91@mail.ru

Одним из способов повышения урожайности в сельском хозяйстве является внесение в почву компостов на основе навоза. Однако использование таких компостов сопряжено с риском загрязнения почвы генами устойчивости к антибиотикам (ГУА). Загрязнение компостов тяжелыми металлами или антибиотиками может увеличить этот риск, в то время как добавление в компост пористых материалов, таких как биочар, может его снизить.

Данная работа посвящена оценке содержания ГУА в курином помете, компостированном с добавлением окситетрациклина (ОТС), тяжелых металлов и биочара. Содержание растворимого органического углерода оценивали согласно ISO 14235:1998. Респираторную активность оценивали согласно ISO 16072:2002. Экстракцию ДНК проводили с использованием набора FastDNA™ Spin Kit. Оценку содержания ГУА (tet(A), tet(X)), гена *int1* и числа копий бактерий и грибов осуществляли с помощью ПЦР в реальном времени. Структуру бактериального сообщества оценивали на основе секвенирования 16S ампликона методом Illumina MiSeq.

Добавление биочара вызывало снижение количества копий ГУА, в том числе в условиях загрязнения металлами и ОТС; поэтому его можно рекомендовать в качестве меры по обработке навоза для решения проблемы распространения ГУА в почвах и сельскохозяйственных культурах. Установлено, что бактериальные сообщества стабильны и не зависят ни от добавления биочара, ОТС, металлов, ни от времени отбора проб. Основным аспектом, определяющим структуру сообщества, является фаза компостирования. Количество копий ГУА в бактериальном сообществе положительно коррелирует с численностью нескольких бактериальных таксонов, считающихся носителями ГУА. Добавление биочара оказало положительное влияние на некоторые таксоны бактерий и отрицательное влияние на ряд других. Уменьшение количества копий ГУА, наблюдаемое в присутствии биочара, вероятно, связано с созданием более благоприятных условий для тех видов, которые вытесняют носителей ГУА из сообщества.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.



Использование генетических технологий для защиты растений от вредителей: от простого трансгеноза до CRISPR/Cas

И.М. Дубовский¹*, Е.В. Гризанова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, Россия
* e-mail: dubovskiy2000@yahoo.com

Редактирование генома растений является популярным и эффективным подходом для повышения их устойчивости к различным вредителям. Токсины бактерий *Bacillus thuringiensis* были первыми защитными компонентами, внедренными в геном растения, и до сих пор эти бактерии остаются основным источником генов для трансгенов для контроля численности вредных насекомых. Использование растительных белков токсичных для вредителей, таких как лектины и ингибиторы протеаз, является еще одной популярной стратегией для увеличения устойчивости растений. Высокоспецифичный метод РНК-интерференции (подавления экспрессии) генов вредителей, за счет экспрессии двухцепочечной РНК в растениях, в последнее время применяется как эффективный подход в области защиты сельскохозяйственных культур. Системы модификации генома на основе CRISPR/Cas позволяют вносить высокоточные изменения в геном растений для повышения их устойчивости к вредителям. Все эти подходы направлены на нарушения физиологических и биохимических систем, а также поведения вредителей. В докладе будет рассмотрен прогресс в улучшении генома растений для защиты от насекомых и клещей за последние два десятилетия. Также будут представлены результаты собственных исследований в области редактирования генома растений и микроорганизмов для создания эффективных подходов защиты растений от различных вредителей.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-16-20031) и Правительства Новосибирской области (№ р-4).



Анализ профиля метаболитов ризосферных штаммов *Bacillus* для подтверждения их пробиотического потенциала

И.Ю. Евдокимов^{1*}, А.Н. Иркитова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный университет», г. Барнаул, Россия
* e-mail: ivan.evdokimov.92@mail.ru

В качестве объектов исследования в работе использованы два штамма споровых бактерий из коллекции ИЦ «Промбиотех» АлтГУ: *Bacillus toyonensis* В-13249 и *B. pumilus* В-13250, выделенных из ризосферы растений Алтайского края.

Анализ метаболитных профилей *B. toyonensis* В-13249 и *B. pumilus* В-13250 производился методом ВЭЖХ-МС/МС. Для этого использовали культуральную жидкость каждого штамма, выращенного глубинно в ферментере периодического действия.

Метаболиты (n = 398) анализировали в режиме MRM (мониторинг множественных реакций). Сбор данных проводили на масс-спектрометре API 6500 QTRAP, оснащенный источником ионизации электрораспылением, работающим в режиме переключения «плюс/минус».

Оценку образцов проводили путем сравнения сигналов метаболитов (значений площади пиков на хроматограммах) с помощью t-критерия Стьюдента. Для сравнения были выбраны 355 метаболитов, имеющих ненулевой сигнал для всех образцов во всех повторностях.

Из 355 метаболитов выявили 117, которые достоверно различались между сравниваемыми группами. Значимые корреляции (p < 0,05) наблюдали для 80 метаболитов у *B. toyonensis* В-13249, а также для 80 веществ *B. pumilus* В-13250. Из них, достоверное накопление метаболитов, относительно среды, было зафиксировано по 43 одинаковым наименованиям метаболитов по сравнению со средой, а также по 37 по-отдельности у каждого из штаммов разных веществ в сравнении со стерильной средой.

В ходе анализа выявлено, что оба исследованных штамма продуцируют разнообразные метаболиты, в том числе большое количество аминокислот и их производных, витаминов группы В, некоторые гормоны, большое количество разнообразных органических кислот.

Таким образом, природные штаммы *B. toyonensis* В-13249 и *B. pumilus* В-13250 обладают потенциалом для включения в состав пробиотиков, в том числе для аквакультуры. Создаваемые на их основе препараты должны обладать высокими питательными ценностями.



Геномика морских бактерий: новые таксоны, экологическая роль и биотехнологический потенциал

*М.П. Исаева¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение наук Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

* e-mail: issaeva@gmail.com

Моря и океаны являются беспрецедентным источником новых бактерий, их генов и геномов. Сегодня возможности секвенирования и анализа метагеномов позволяют изучать некультивируемые штаммы морских бактерий. Однако исключительную ценность представляют работы по выделению редких таксонов в чистой культуре и описанию новых таксонов. Сравнительный анализ ортологичных генов, их потерь и приобретений, позволяет установить особенности эволюции микроорганизмов. Исследование же пан-генома, его уникальной части, позволяет сделать выводы о занимаемой микроорганизмом экологической нише. Помимо понимания экологической роли новых таксонов в микробных сообществах, открываются возможности проведения геномного и метаболического биопроспектинга в отношении поиска новых биотехнологически ценных генов, биосинтетических генных кластеров, природных соединений и активностей. Потенциально, новые таксоны морских бактерий могут быть источником уникальных биотехнологически ценных ферментов. Исследования в области морской микробиологии и химии природных соединений показали, что таксономическая принадлежность бактерий, ее экологическая роль и метаболический потенциал во многом определяются условиями обитания и наличием механизмов адаптации к ним. В докладе будут представлены результаты применения сравнительной геномики и геномного биопроспектинга для описания новых таксонов морских бактерий из биоресурсной коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН, понимания их экологической роли и биотехнологического потенциала.

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



Микробный транскриптом филлосферы тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.)

Е.К. Жаркова¹, В.М. Казакова¹ *

¹ Российский государственный аграрный университет - Московская сельскохозяйственная академия имени Тимирязева, Москва, Россия
* e-mail: varvaritoo@yandex.ru

Микробиота надземных органов растений не является случайным скоплением микробов, а образует континуум микробно-растительных ассоциаций, внутри которых существует строгая видовая специфичность в зависимости от органов и тканей, более того, такое взаимодействие варьирует в течение вегетации и ряда других абиотических и биотических факторов. Известно, что наряду с другими факторами, обеспечивающими иммунитет растений, эпифитная микробиота служит первичным барьером для защиты растений от попадающих из окружающей среды сапрофитных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

Целью исследования было изучение микробного сообщества филлосферы тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.) – ценного лекарственного растения, синтезирующего в надземных органах эфирное масло, обладающее высокой антимикробной активностью по отношению к микроорганизмам из различных систематических групп.

Микробиота филлосферы тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.) изучалась путем выделения тотальной РНК с поверхности трех частей растения: стебель, лист и цветок, с дальнейшей постановкой обратной транскрипции и проведением ПЦР-РВ, и последующим секвенированием. Результаты исследования показали, что наибольшее количество микробов обитало на поверхности стеблей ($5,67 \cdot 10^8$ копий генов), наименьшее – на поверхности листьев ($2,33 \cdot 10^8$ копий генов). У цветков количество микробов ($2,34 \cdot 10^8$ копий генов) практически не отличается от значения, найденного на листьях. Представленность бактерий, архей и грибов не была однородной, во всех типах образцов доминировали бактерии. Подавляющее большинство бактерий было отнесено к типу Proteobacteria (71,32%), в то время как среди грибов преобладали представители отдела Ascomycota (89,54%). Стоит отметить, что выявленное обилие микроорганизмов обратно коррелирует с содержанием эфирных масел в цветках, стеблях и листьях тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.), что подтверждает их значительное влияние на состав микробных сообществ филлосферы.



Разработка платформы для скрининга комбинаторных библиотек ДНК- кодируемых антимикробных соединений, активных в отношении ESCAPE-патогенов

А.И. Калганова^{1*}, С.О. Пупия¹, И.В. Смирнов^{1,2}, С.С. Терехов¹

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

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, РФ
* e-mail: kalganovanas@ibch.ru

Антибиотикорезистентность является серьезным вызовом современной системе здравоохранения не только в связи с очевидным риском неизлечимых инфекционных заболеваний, но и с осложнением проведения больничных процедур из-за формирования резистентных внутрибольничных штаммов. Кризис антибиотикорезистентности связан с проблемой поиска и разработки новых препаратов. На настоящий момент существует ограниченное количество методов проведения высокоэффективного скрининга новых противомикробных препаратов. Данная работа направлена на создание платформы для скрининга комбинаторных библиотек антибактериальных соединений против мультирезистентных штаммов социально значимых патогенов. Такая платформа позволит отбирать молекулы с различными механизмами действий, а также обеспечит большую специфичность молекул-кандидатов. Метод витальной селекции по сравнению с другими методами даст возможность перейти на более высокий уровень производительности. Ранее была продемонстрирована возможность гетерологической экспрессии АМП в *Pichia pastoris* и подобраны пептидные матрицы природных АМП для создания на их основе библиотек. Идея метода заключается в кокультивации дрожжевых клеткок-продуцентов АМП с бактерией-мишенью внутри эмульсии, полученной с помощью микрофлюидного генератора эмульсий. Внутри одной капли один продуцент нарабатывает только одно из соединений комбинаторной библиотеки, в то же время бактериальные клетки реализуют видоспецифичные факторы вирулентности против продуцента. После инкубации выжившие дрожжи считаются продуцентами активных молекул. Для того, чтобы получить молекулы, активные в отношении штаммов ESCAPE-патогенов, в качестве бактерии-мишени сразу используется патогенный штамм бактерии *Klebsiella pneumoniae*. Полученные предварительные результаты показывают перспективность использования данной платформы для эффективного отбора ДНК-кодируемых молекул.

Исследование выполнено при поддержке Минобрнауки России Соглашение № 075-15-2024-536.



Разработка технологии создания биопрепарата на основе синтетического микробного сообщества для защиты растений

А.Р. Камалова^{1*}, Л.Р. Бикташева¹, Л. Александрова

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

* e-mail: akhtjamovaalina07@gmail.com

Биосурфактанты обладают потенциалом для сельского хозяйства, так как могут рассматриваться в качестве потенциальных агентов биоконтроля благодаря выраженным антимикробным и антифунгицидным свойствам по отношению к фитопатогенам. В окружающей среде существуют аборигенные сообщества микроорганизмов, способных продуцировать биосурфактанты. Разработка биопрепарата на основе таких микроорганизмов, позволит повысить продолжительность его действия и одновременно усилить фунгицидные свойства продуцируемых ими биосурфактантов.

Целью данной работы является создание биопрепарата на основе синтетического микробного сообщества, полученного из ризосферной почвы растений салата (*Latuca sativa*). Было выделено 47 бактериальных изолята, 65% из которых удалось идентифицировать до вида, а также проведен скрининг сурфактационной активности. Был выделен 31 изолят, обладающий высокой сурфактационной активностью. Синтетическое сообщество содержало следующие штаммы: *Bacillus mojavensis*, *Pseudomonas veronii*, *Arthrobacter aurescens*, *Paenibacillus illinoisensis*. Для них были проанализированы метаболическая активность, физиологический профиль (по спектру потребляемых углеродных субстратов), ростовые характеристики и возможность совместного культивирования на двух питательных средах – богатой (LB) и бедной (ВН с 1% глюкозы). Таким образом, из всех исследуемых синтетических сообществ наиболее перспективным с точки зрения их совместного культивирования, способности утилизировать различные углеродные субстраты и оптимальных значений ростовых характеристик оказалось сообщество на основе трех изолятов - *Ps. veronii*, *A. aurescens* и *P. illinoisensis*, а наиболее релевантной синтетической средой для культивирования оказалась богатая питательная среда LB.

Благодарность. 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.



Новая схема молекулярного типирования возбудителя гонококковой инфекции *Neisseria gonorrhoeae*

И.Д. Кандинов^{1*}, А.А. Ларкин¹, Б.Л. Шаскольский¹, Д.В. Кравцов¹, Д.А. Грядунов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии
им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия

* e-mail: ilya9622@gmail.com

Глобальная проблема устойчивости возбудителя гонококковой инфекции *Neisseria gonorrhoeae* к антимикробным препаратам требует совершенствования схем молекулярного типирования, пригодных для быстрого и массового скрининга. Целью настоящего исследования являлась разработка и апробация новой схемы молекулярного типирования для *N. gonorrhoeae* на основе данных о глобальной популяции патогена. Проанализировано 21402 изолятов с известными MLST (multi-locus sequence typing) генотипами из базы данных PubMLST. Используя последовательности семи высококонсервативных генов домашнего хозяйства, выявлено восемнадцать информативных полиморфизмов, составивших нуклеотидные профили (mini-MLST) для предсказания MLST-генотипов изолятов. На основе mini-MLST профилей предложена новая система группировки молекулярных типов для *N. gonorrhoeae*. Филогенетический анализ показал, что полученные MLST-геногруппы являются стабильной характеристикой глобальной популяции *N. gonorrhoeae*. Предложенная система группировки позволила объединить изоляты со сходной чувствительностью к антимикробным препаратам, что подтверждается характеристиками доминирующих MLST-геногрупп. Показано, что изоляты из геногруппы G1901 были ассоциированы со снижением чувствительности к цефалоспорином III поколения, цефтриаксону и цефиксиму, а изоляты геногруппы G9363 - с устойчивостью к азитромицину. Разработаны и размещены онлайн (<https://minimlst.su/>) алгоритмы предсказания молекулярных типов изолятов по схеме типирования mini-MLST. Созданная схема mini-MLST типирования *N. gonorrhoeae* реализована в методе определения/предсказания MLST-генотипов на основе гидрогелевого ДНК-микрочипа. Результаты подтвердили высокую предсказательную способность метода до MLST-геногруппы. Предложенный комплексный подход к анализу гонококковой популяции может быть использован для непрерывного мониторинга известных и вновь возникающих резистентных форм возбудителя гонореи.



Филогенетический анализ штаммов *Rhizobium laguerreae* AMPS, выделенных из почв Испании

Е.А. Киричек¹*, А.В. Цыганова¹, В.Е. Цыганов¹

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

* e-mail: e.kirichek@arriam.ru

Селекция перспективных штаммов клубеньковых бактерий (ризобий) является необходимым этапом для создания эффективных растительно-микробных систем. Новый вид ризобий – *Rhizobium laguerreae* – является перспективным инокулянтom для гороха. В данном исследовании геномы шести штаммов AMPS, выделенных из почв Испании и описанных как *R. laguerreae*, были секвенированы методом ONT и проанализированы.

Построение филогенетических деревьев на основе полногеномных прочтений для хромосомных контигов с использованием инструментов NDtree и REALPHY позволило поместить изучаемые штаммы в контекст глобального разнообразия ризобий в пределах комплекса видов *R. leguminosarum*. При этом полученная топологическая структура дерева NDtree почти полностью согласовывалась с таковой при использовании REALPHY.

Дополнительно, геномные сборки сравнивали с репрезентативными представителями *R. leguminosarum* по средней идентичности нуклеотидных последовательностей (ANI) и средней идентичности нуклеотидных последовательностей ортологов (OrthoANI). При сравнении значений ANI и OrthoANI для хромосомных контигов наиболее близкими к эталонному геному *R. laguerreae* FB206 оказались штаммы AMPS17, AMPS04 и AMPS23 (идентичность выше 98%). Эти штаммы относятся к группе gsR и могут рассматриваться как *R. laguerreae sensu stricto*. Штамм AMPS22 принадлежит группе gsN с идентичностью OrthoANI в 97.58% к референсу *R. leguminosarum* bv. *viciae* TOM. Наиболее близким родственным штаммом для AMPS05 и AMPS34 является *R. laguerreae* JH12449 из группы gsO со значениями OrthoANI 96.19% и 96.09%, соответственно.

Нехромосомные контиги более однородны среди штаммов AMPS и имеют наибольшее сходство с нехромосомными компонентами представителя gsR, за исключением штамма AMPS22. Нехромосомные контиги AMPS22, как и хромосомные, тяготеют к группе gsN.

Таким образом, было установлено филогенетическое положение шести штаммов AMPS в пределах комплекса видов *R. leguminosarum*.

Работа финансово поддержана грантом РФФ 23-16-00090.



Бактериопланктон Северного морского пути

О.П. Коновалова^{1}, Д.А. Юрикова^{1,2}, Ю.А. Папа-Дмитриева³, С.В. Лужан¹, В.О. Калениченко¹*

¹ ООО «Центр морских исследований МГУ имени М.В. Ломоносова», Москва, Россия

² Институт океанологии имени П.П. Ширшова РАН

³ Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

* e-mail: o.konovalova@marine-rc.ru

Были проведены исследования распределения бактериопланктона в акватории арктических морей России и влияние на него антропогенного воздействия.

Пробы для анализа бактериопланктона были взяты в рамках комплексного экологического мониторинга Северного морского пути (по проекту ГК «Росатом») со станций, расположенных вдоль трассы СМП: в Карском море, море Лаптевых, Восточно-Сибирском и Чукотском морях, во внутренних водах (в реках Обь и Енисей), а также в акваториях морских портов. За период исследований 2021-2023 гг. было обработано 172 образца геномной ДНК прокариот, что составляет на данный момент наиболее географически обширное исследование в российской Арктике: 44 образца – в 2021 г., 32 – в 2022 г. на всем протяжении СМП и 96 – в акваториях портовых зон – в 2023г.

Пробы отбирали с 3 горизонтов: поверхностного, придонного и слоя скачка солености. Обработка образцов геномной ДНК прокариот проводилась методами амплификации переменных регионов V3-V4 гена 16S рРНК. Секвенирование проводилось на платформе Illumina. Также было проанализировано содержание в воде загрязняющих веществ (тяжелых металлов, нефтепродуктов).

По результатам анализа проб, отобранных в 2021-2023 гг. наибольшее видовое разнообразие характеризовало тип Proteobacteria, а внутри этого типа – класс Gammaproteobacteria. Таксономический состав бактериопланктона был сопоставим для морских и речных станций, однако наблюдались различия между морскими станциями: Карское море характеризовалось наименьшим видовым разнообразием. В 2021 г. из трёх горизонтов пробоотбора максимальное количество видов было отмечено для придонного слоя воды во внутренних водах, а в 2022 г. – на станциях восточного сектора Арктики. Влияние антропогенного загрязнения портовых акваторий на таксономический состав бактерий проявлялось менее, чем влияние опреснения в приустьевых зонах рек. Уникальные виды, которые были отмечены только для одной группы станций, морской или пресноводной, находились во всех горизонтах пробоотбора.



Использование биоинформатических методов для поиска бактериолитических ферментов бациллярных бактериофагов

О.Н. Копосова¹, О.А. Казанцева¹, А.М. Шадрин¹*

¹ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов РАН - обособленное подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН, Пущино, Россия

* e-mail: olga.n.koposova@mail.ru

Поиск новых бактериолитических ферментов – одна из актуальных задач современной науки в связи с ростом антибиотикорезистентности бактерий. Один из вариантов решения – поиск бактериолитических ферментов бактериофагов и разработка их усовершенствованных вариантов. Для большей эффективности этого процесса необходимо изучение разных типов таких ферментов. Поэтому был выполнен поиск бактериолитических ферментов бациллярных бактериофагов с различными каталитическими доменами и доменами связывания с клеточной стенкой с целью изучить их свойства. Для этого из базы данных NCBI Nucleotide database были выгружены 440 нуклеотидных последовательностей геномов бациллярных бактериофагов. Они были ре-аннотированы RASTk. В ре-аннотированных геномах вручную были отобраны последовательности с «function», указывающей на бактериолитическую активность: получилось 477 потенциальных генов бактериолитических ферментов. Их аминокислотные последовательности были загружены в BLASTp (база данных «non-redundant protein sequences (nr)» для организмов «Viruses (taxid:10239)», алгоритм «PSI-BLAST (Position-Specific Iterated BLAST)») и HHpred (базы данных доменов Pfam-A_v36, COG_KOG_v1.0, SCOPe70_2.08, NCBI_conserved_Domain(CD)_v3.19 и параметры по умолчанию). Функции белков были предсказаны по результатам этого анализа. Были исключены последовательности, не входящие в группу бактериолитических ферментов, в итоге из 477 осталось 459. Также при помощи BLASTp, HHpred и InterPro были определены предполагаемые домены всех исследуемых белков. По их аминокислотным последовательностям были построены филогенетические древа в MEGA X: общее для всех последовательностей и отдельные по группам каталитических доменов. Был проведен анализ публикаций на предмет уже описанных ферментов. И, на основании всех этих данных, были выбраны ферменты для дальнейшего исследования.

Работа поддержана грантом РФФ №22-15-00385.



Дисперсные повторы в геномах бактерий

Е.В. Коротков¹*

¹ Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», Москва, Россия

* e-mail: bioinf@yandex.ru

Мы разработали новый метод (IP метод) поиска дисперсных повторов в разнообразных геномах (Korotkov et al. 2023). Этот метод позволяет найти дисперсные повторы в любом геноме в том случае, когда среднее число замен между любыми двумя повторами в расчете на одно основание (x) ДНК будет меньше 1.7. Все ранее разработанные методы поиска дисперсных повторов (RED, RECON или Repeat_masker и многие другие) могут найти дисперсные повторы только для $x \leq 1.0$. Это означает, что впервые появилась возможность проверить существование семейств повторов в интервале $1.0 \leq x \leq 1.7$ в прокариотических геномах. Мы применили IP метод для поиска дисперсных повторов в геномах 42 бактерий, случайно выбранных из всех известных типов (phyla) бактерий. Полученные результаты показывают, что геном каждой из изученных бактерий содержат сильно дивергировавшее семейство повторов с числом копий от 103 для генома *Spiroplasma poulsonii* до 14383 для генома *Gemmata obscuriglobus*. Повторы занимают от 30% до 60% бактериальных геномов и более 90% повторов наложены как мотив на кодирующие последовательности. Длины найденных дисперсных повторов лежат в интервале от 450 до 580 оснований в зависимости от генома бактерии. Поиск повторов в случайно перемешанных геномах показал, что число ложных позитивов для полученных результатов менее 1%. Мы сформировали также консенсусные последовательности для повторов из каждой бактерии при помощи программы Weblogo. Эти консенсусы показывает, что обнаруженные повторы внутри семейства слабо подобны друг другу, но в них встречается достаточно много небольших участков длиной 3-5 оснований или отдельных позиций, где наблюдается почти 100% подобие. Можно сказать, что повторы содержат консервативные островки, которые чередуются слабо подобными районами. Мы предполагаем, что найденные в работе дисперсные повторы могут быть участками связывания различных нуклеоид-ассоциированных белков и способствовать свертке бактериальной ДНК в nucleoid.



Изучение потенциала биологических ресурсов удобрений и биопрепаратов для повышения урожайности сельскохозяйственных культур

Ю.В. Косульников^{1*}, К.Н. Бердышева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: yv.kosulnikov@arriam.ru

Были изучены культуральные признаки ряда перспективных бактериальных штаммов клубеньковых бактерий реликтовых бобовых культур:

1. *R. leguminosarum* шт. 0626
2. *R. leguminosarum* шт. 1365
3. *Mesorhizobium kowhaii* шт. Ach-343
4. *Mesorhizobium japonicum* шт. Оро-242
5. *Bosea* шт. А18/3-2
6. *Bosea* шт. А18/4-2
7. *Devosia* шт. А8/3-2
8. *Phyllobacterium* шт. А18/3m

Жидкие микробные культуры выращивались при стандартных условиях, а именно 14 суток в качалочных колбах объемом – 250 мл при скорости оборота мешалки в 180. об/мин. и при температуре – 30 °С.

Для выращивания бактерий в жидкой культуре был подобран ряд полусинтетических питательных сред, среди которых наиболее продуктивными оказались маннитно-дрожжевая (маннит – 10 г/л; дрожжевой экстракт – 1 г/л; K₂HPO₄ – 0,5 г/л, MgSO₄ - 0,2 г/л; NaCl – 0,1 г/л; остальное – вода) и глюкозо-пептонная (глюкоза – 10 г/л; пептон – 1 г/л; K₂HPO₄ – 0,5 г/л, MgSO₄ - 0,2 г/л; NaCl – 0,1 г/л; остальное – вода).

Данные среды обеспечивали титр культур не менее 0,5 млрд. КОЕ/мл уже на 7 сут. роста для каждого из изучаемых штаммов. При этом, глюкозо-пептонная среда обеспечила существенно более активный рост изучаемых штаммов, по сравнению с маннитно-дрожжевой, что выражалось в кратно более высоких титрах бактерий.

Определение динамик титра штаммов в совместных культурах при их хранении показало, что сразу после смешения бактерии препаратов испытывают стресс. В частности, титр ризобий *R. leguminosarum* шт. 0626 в смеси с культурой *Devosia* шт. А8/3-2 за 7 сут. хранения сократился с 2,85*10⁹ в 9 КОЕ/мл до 0,31*10⁹ в 9 КОЕ/мл, т.е. почти на порядок.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



Гонококковый генетический остров в глобальной популяции *N. gonorrhoeae*: структура, функции и связь с устойчивостью к антибиотикам

Д.В. Кравцов^{1*}, Б.Л. Шаскольский¹, Д.А. Грядунов¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук,
Москва, Россия

* e-mail: solo13.37@yandex.ru

Гонорея, вызываемая грамотрицательной бактерией *N. gonorrhoeae* – одна из наиболее распространенных в мире инфекций, передаваемых половым путем. История применения антибиотиков для лечения *N. gonorrhoeae* свидетельствует о стремительном распространении устойчивости к ним, в том числе, благодаря механизмам горизонтального переноса генов. Одним из таких механизмов у *N. gonorrhoeae* является система секреции IV типа (T4SS), кодируемая генами гонококкового генетического острова (GGI). Она позволяет *N. gonorrhoeae* выбрасывать во внеклеточную среду ДНК, которая затем специфично распознается пилями клетки-реципиента и рекомбинируется в ее геном.

Был проведен анализ GGI в глобальной выборке в 14763 геномов изолятов, собранных в 1996-2019 годах в 68 странах, включая 48 секвенированных геномов из России (GenBank PRJNA768989). Задачами работы являлось изучение генетического разнообразия GGI, выявление ассоциации между GGI и молекулярными типами из традиционных схем молекулярного типирования *N. gonorrhoeae* NG-MAST и MLST, а также установление связи GGI с устойчивостью к антибиотикам.

В ходе анализа выяснилось, что только 66% изолятов имеют GGI, при этом 22% из них имеют изменения и поломки в генах GGI, приводящие к потере функциональности T4SS, т.е. способности секретировать ДНК. Предложена модель генетического разнообразия GGI, которая отражает различия между изолятами в функциональности GGI. Показано, что схемы типирования NG-MAST и MLST (с точностью 91% и 83% соответственно) позволяют делать выводы о наличии GGI, его структуре и функциональности. Проведено попарное сравнение распределения устойчивости к антимикробным препаратам у изолятов *N. gonorrhoeae* с функциональным, нефункциональным GGI, и без него. Установлено, что функциональный GGI статистически достоверно ($p < 0,001$) ассоциирован с устойчивостью к ципрофлоксацину, цефиксиму, тетрациклину и пенициллину.

Работа выполнена при поддержке Соглашения с Министерством науки и высшего образования РФ № 075-15-2019-1660.



Изучение персистенции бактерий *Bacillus thuringiensis* в кишечнике вошинной огневки *Galleria mellonella*

А.А. Круговых^{1*}, Е.В. Гризанова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, Россия

Бактерии *Bacillus thuringiensis* (БТ) широко используется как основа биологических препаратов для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур. При заражении бактериями БТ чаще всего насекомые отказываются от питания, происходит токсикоз, и рефлексорное очищение кишечника от бактерий и их токсинов. Время нахождения бактерий в кишечнике насекомых после заражения также может зависеть от различных факторов, включая физиологическое состояние организма насекомого, наличие других микроорганизмов и состава корма. В ряде исследований показано, что при заражении спорами бактерий БТ насекомых, которые не имеют микробиоты в кишечнике и содержатся на стерильном корме, споры покидают кишечник за два часа и не вызывают развитие инфекции. Микробиом кишечника насекомых играет важнейшую роль в росте, развитии, питании и регуляции иммунитета насекомых. Кроме того, представители кишечной микробиоты могут влиять на вирулентность бактерий БТ. В данной работе проводили изучение времени персистенции спор бактерий БТ в кишечнике, скорости прорастания спор в кишечнике, при пероральном заражении насекомых, с естественным составом микробиома и содержащихся на искусственной питательной среде.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-16-00113.



Создание базы данных генетических последовательностей для идентификации грибов арбускулярной микоризы: необходимость и достаточность

А.А. Крюков^{1}, А.П. Юрков¹, А.И. Горенкова², А.О. Горбунова¹, Ю.В. Лактионов¹*

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия,

² Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия,

* e-mail: aa.krukov@arriam.ru

Арбускулярная микориза (АМ) является широко распространенным симбиозом, формируемым большинством наземных растений с грибами подотдела Glomeromycotina. Проблемой в изучении АМ-грибов является трудность их идентификации. Ряд видов АМ грибов сложно различим по морфологии. В тоже время вопрос баркода для АМ грибов до сих пор остается дискуссионным. Наиболее часто используемым для идентификации АМ грибов маркерным регионом является SSU-ITS1-5.8SrRNA-ITS2-LSU. Его длина составляет более 2000 пн, что не дает эффективно его исследовать с помощью Illumina MiSeq. Мы предлагаем использовать смесь праймеров на несколько участков этого региона в одном секвенировании, чтобы получать данные для идентификации как на уровне рода, так и вида. В тоже время будущее за методами позволяющими секвенировать сразу весь исследуемый регион в одном прочтении. Еще одной проблемой является недостаточность наполнения базы данных АМ грибов. AMF species list <http://www.amf-phylogeny.com/> насчитывает в настоящее время 355 видов АМ грибов. По базам данных последовательностей же известно менее 200 видов. Это приводит к выявлению виртуальных таксонов. Существует база виртуальных таксонов АМ грибов – MAARJAM, использование которой не эффективно. При этом, около 20-30 % последовательностей АМ грибов в базе NCBI имеют ошибочную идентификацию. Мы, используя отфильтрованные на ошибки данные NCBI создаем свою базу последовательностей. Для отсева ошибок анализируется как авторство, год секвенирования, так и ручной анализ выравнивания, филогенетический анализ. Наша база содержит информацию по 33 родам и 176 видам АМ грибов в настоящее время. Это будет способствовать точной идентификации грибов АМ, в том числе коллекций.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



Поиск бактериальных штаммов-деструкторов, перспективных для биоремедиации

Е.В. Крючкова^{1}, Г.Л. Бурыгин^{1,2}*

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»

² Институт химии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

* e-mail: kryu-lena@yandex.ru

Интенсивное ведение сельского хозяйства приводит к загрязнению почвенного профиля, истощению плодородного слоя, а также снижает способность почв к самоочищению. Ключевую роль в процессах трансформации и деградации загрязнений до нетоксичных интермедиатов играют бактерии, обладающие гибким метаболическим потенциалом. В работе обсуждается комплекс подходов, направленных на выделение и изучение ризосферных штаммов-деструкторов глифосата. Исследуется их устойчивость и деструктивная активность по отношению к гербициду. Проводится сравнительный геномный анализ структурного строения генных кластеров, кодирующих белки, отвечающие за транспорт и деградацию глифосата у таких бактерий как *Enterobacter cloacae* K7, *Achromobacter insolitus* LCu2, *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, *Pseudomonas chlororaphis* K3. Предсказаны возможные биохимические пути деградации глифосата для выше приведённых микроорганизмов. Оценивается рост-стимулирующий потенциал по отношению к различным видам растений, выращенных в условиях загрязнений в модельных экспериментах. Показано влияние бактериальной инокуляции на транспорт и транслокацию загрязнений в растениях. Полученные данные важны для создания экологических и эффективных технологий ремедиации загрязнённых территорий.



Лабораторная эволюция: итоги 11 лет непрерывного эксперимента на модельном грибе *Podospora anserina*

О.А. Кудрявцева^{1*}, А.А. Гаспарян¹, С.М. Агроскин¹, М.А. Белозерский², Я.Е. Дунаевский²

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Биологический факультет, Москва, Россия

² НИИ Физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ,
Отдел белков растений, Москва, Россия

* e-mail: for-ol-ga@yandex.ru

Принцип лабораторной эволюции подразумевает постепенную адаптацию изучаемой популяции микроорганизмов к заданным лабораторным условиям и осуществляется за счет периодических серийных пересевов небольшой части биомассы. Современные технологии секвенирования позволяют достаточно точно выявлять геномные перестройки, сопровождающие видимые адаптивные изменения. Они могут быть зафиксированы уже через несколько дней или недель проведения эксперимента. При этом на длительных временных промежутках геномная динамика лабораторных микробиологических культур всё ещё остается малоизученной.

Мы ввели в арсенал эволюционной биологии новый организм и способ его культивирования в качестве модельной системы. С 2012 года наша научная группа проводит непрерывный эволюционный эксперимент на аскомицетном грибе *Podospora anserina* на базе Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова. В условиях данного опыта независимые мицелиальные линии вынуждены адаптироваться к погруженному росту в жидкой аэрируемой среде. В равноотстоящих друг от друга временных точках осуществляют полногеномное секвенирование ДНК всех экспериментальных линий на платформе Illumina.

Настоящая работа посвящена биоинформатическому анализу новых экспериментальных данных, которые были получены в опыте на *P. anserina* в 2023 году. В докладе основное внимание будет уделено выявлению *de novo* мутаций. Будет представлена подробная аннотация и функциональная интерпретация обнаруженных мутаций, в особенности – эволюционных параллелизмов. Будут рассмотрены метаболические и регуляторные пути *P. anserina*, наиболее сильно затронутые процессом закрепления *de novo* мутаций. Кроме того, будет прослежена геномная динамика во всех ранее изученных временных точках. Таким образом, будет наглядно продемонстрировано, что в долгосрочных эволюционных экспериментах проявляются микроэволюционные эффекты, которые не удается спровоцировать в рамках краткосрочных проектов.

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФ, грант № 23-24-00318.



Новые представители рода *Vibrio*, выделенные из морской полихеты *Chaetopterus cautus*

В.В. Куриленко^{1*}, Н.Ю. Отставных¹, Д.О. Личманюк¹, М.П. Исаева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение наук Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток

* e-mail: valerie@piboc.dvo.ru

Род *Vibrio* является одной из наиболее многочисленных групп бактерий, представленной 151 валидно опубликованным видом (<https://lpsn.dsmz.de/genus/vibrio>). Представители этого рода могут выделяться из различных образцов наземного и морских происхождения, для них характерно высокое меж- и внутривидовое разнообразие. Некоторые виды этого рода являются патогенными для человека. Вибрионы имеют палочковидную форму клетки, являются факультативными анаэробами, спор и капсул не образуют. Большинство представителей данного рода подвижны посредством различного количества жгутиков.

В ходе изучения биоразнообразия морских бактерий, ассоциированных с морской полихетой *Chaetopterus cautus*, и поиска продуцентов биологически активных соединений, из слизи (мукуса) ловчей сети было выделено около 50 штаммов бактерий. Животные были собраны на глубине 6–10 м в прибрежных водах бухты Троицы, залива Петра Великого, Японского моря в августе 2016 г. Предварительно двадцать штаммов бактерий были идентифицированы как представители рода *Vibrio* на основе данных МАЛДИ и 16S рРНК-генотипирования. Показано, что штамм *Vibrio* sp. СВ 1-14 является продуцентом 6-эпи-монанхорина и возможным кандидатом на новый вид рода *Vibrio*.

Согласно филогенетическому анализу на основе определения гена 16S рРНК, штаммы СВ 1-14, СВ 2-10 и СВ 2-8, представляющие новый вид рода *Vibrio* как было показано ранее, образовали отдельную ветвь, поддерживаемую значением бутстрепа 71% и наиболее близкую к виду *V. hangzhouensis*. Штамм СВ 1-5 также образовал отдельную ветвь внутри клады, содержащей виды *V. variabilis*, *V. maritimus*, *V. hangzhouensis*.

На основе мультилокусного анализа с использованием 5-7 генов «домашнего хозяйства» шесть штаммов были отнесены к виду *V. mediterranei*, три штамма к виду *V. barjaei* и по одному штамму к видам *V. crassostreae*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi* и *V. owensii*. Остальные девять штаммов формировали пять отдельных кластеров, являясь вероятными кандидатами на новые виды рода *Vibrio*.

По данным филогеномного анализа штаммы СВ 1-14, СВ 2-10 и СВ 2-8, а также СВ 1-5 являются представителями двух новых видов рода *Vibrio*. Штаммы СВ 1-14, СВ 2-10, СВ 2-8 и СВ 1-5 представляет собой грамотрицательные, оксидазоположительные, каталазоположительные, подвижные, аэробные овоиды, которые растут при содержании хлористого натрия в среде 0,5-7%. Все вышеописанные штаммы гидролизует ДНК, крахмал, твин 80, твин 20, твин 40 и не гидролизует казеин. Штаммы СВ 1-14, СВ 2-10, СВ 2-8 продуцирует сероводород из тиосульфата и гидролизует желатин.

Для штаммов СВ 1-14, СВ 2-10 и СВ 2-8 предлагается название “*Vibrio polychaetae*” sp. nov., а для штамма СВ 1-5 – “*Vibrio chaetopteri*” sp. nov.

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



Скорость деструкции и оценка разнообразия сообщества деструкторов липового валежа в условиях смешанного леса зоны южной тайги

П.А. Курынцева^{1}, Д.В. Тишин², К.О. Потапов², С.Ю. Селивановская^{2*}*

¹ Институт экологии и природопользования, Казанский федеральный университет, Казань, Россия

² Институт экологии и природопользования, Казанский федеральный университет, Казань, Россия

* e-mail: polinazwerewa@yandex.ru

* e-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

Леса играют важную роль в углеродном цикле, удаляя из атмосферы около 10 млрд т углерода в год. Однако, только молодые леса являются интенсивными поглотителями углерода, в зрелых лесах скорость прироста фитомассы ниже и высока доля мортмассы. Мировой запас углерода в валежной древесине может превышать 73 миллиардов тонн углерода. Для оценки эффективности улавливания CO² древесной растительностью, необходимо учитывать скорость и механизмы разложения древесины. Поскольку разложение органического вещества реализуется микробными сообществами, то для понимания данных процессов и разработки методов их контроля необходимо иметь данные о составе и функционировании таких сообществ. В 2019 году был заложен эксперимент по оценке деструкции липы, являющей одной из основных лесообразующих пород на территории республики Татарстан. На протяжении четырех лет определяли изменение веса и плотности липового валежа. По истечении 4 лет фрагменты древесины, а также образцы почва и лесная подстилка были подвергнуты анализу микробного сообщества методом секвенирования 16S рРНК и ITS регионов на платформе MiSeq Illumina. Установлено, что наибольшим альфа-разнообразием бактериального и грибного сообщества, на основании данных индексов Шеннона и Симпсона, характеризовались образцы почвенного гумусового слоя. Микробные сообщества лесной подстилки и древесины были менее разнообразны. В качестве доминантов в образцах древесины и лесной подстилки выявлены виды грибов и бактерий, характеризующиеся наличием метаболических путей, позволяющих разлагать целлюлозосодержащий субстрат. Такие наблюдения позволяют описать совокупность процессов деструкции органического вещества в экосистемах, определить участие отдельных групп микроорганизмов в глобальных циклах углерода на уровне потребления углеродсодержащих субстратов.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2024-0004.



Роль специализированной микробной коллекции ИЭГМ в развитии ресурсного потенциала экобиотехнологии

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

¹ Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, Россия

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

* e-mail: kuyukina@iegm.ru

Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов (акроним ИЭГМ, WFCC #285, УНУ 73559, ЦКП 480868, <http://www.iegmcol.ru>) функционирует на Урале в одном из перспективных нефтегазопромысловых регионов России как центр комплексных исследований экологически значимых углеводородокисляющих актиномицетов рода *Rhodococcus* (класс Actinomycetales). Родококки обладают редким свойством использовать в качестве единственного источника углерода наряду с жидкими и твердыми углеводородами высшие газообразные гомологи метана (пропан, н-бутан). Они занимают доминирующее положение в биотопах районов нефтяных загрязнений и играют ведущую роль в процессах биодegradации природных и антропогенных углеводородов. В коллекции представлены штаммы-биодеструкторы углеводородов разных классов, нефтепродуктов и эмерджентных загрязнителей. Коллекционные штаммы устойчивы к органическим растворителям, тяжёлым металлам, фармполлютантам, активны при экстремальных значениях температуры, рН, солёности. На основе детально охарактеризованных штаммов-биодеструкторов создана серия бактериальных препаратов углеводородокисляющего действия и природоохранных технологий, максимально приближенных к естественным процессам. Они применяются в работах по биоремедиации земель, загрязненных нефтепродуктами и солями тяжелых металлов, в рамках соглашений с экологическими компаниями, оказывающими сервисные услуги предприятиям топливно-энергетического и металлургического секторов. Разработана и запатентована технологическая схема биоремедиации, адаптированная к холодными климатическими условиями. Приводятся примеры многолетнего сотрудничества со стратегическими партнерами по биодegradации нефтешламов и золошламов, обработке углеводород- и металлосодержащих сточных вод, отходов нефтеоргсинтеза.



Секвенирование и анализ генома штамма *Aeromonas veronii* БИМ В-1812 – возбудителя аэромоноза рыб

С.И. Леонович^{1*}, А.Э. Охремчук¹, Е.В. Максимьюк², С.М. Дегтярик², А.В. Сидоренко¹

¹ Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

² РУП «Институт рыбного хозяйства», Минск, Беларусь

Аэромоноз наносит значительный экономический ущерб рыбоводческим хозяйствам. Патогенез данной инфекции коррелирует с продукцией бактериями ряда клеточно-ассоциированных и внеклеточных факторов вирулентности. Борьба с патогенными аэромонадами может осложняться их устойчивостью к антибиотикам, используемым в аквакультуре.

Цель данной работы – анализ генетических детерминант вирулентности и антибиотикорезистентности в геноме штамма *Aeromonas veronii* БИМ В-1812 – возбудителя аэромоноза рыб. Штамм выделен из селезенки карася серебряного и характеризуется высокой вирулентностью, вызывая при модельном заражении смертность 60% сеголеток карпа.

Нуклеотидная последовательность генома *A. veronii* БИМ В-1812 собрана de novo гибридным методом из коротких и длинных прочтений, полученных на платформах MinION и MiSeq. Аннотацию генома проводили с помощью программы Prokka (v. 1.14.6). Номера доступа к геномным данным в ГенБанке НЦБИ CP136589 - CP136591.

Геном *A. veronii* БИМ В-1812 представлен кольцевой хромосомой размером 4 954 599 п.н. (ГЦ состав 58,9%) и двумя кольцевыми плазмидами размерами 5 865 п.н. и 114 265 п.н. Анализируемый геном содержит гены белков систем секреции I, II, III и VI типов (3, 14, 38 и 22 гена, соответственно); гены, кодирующие аэролизин (*aerA*), гемолизин (*hlyA*), гемолизин III типа, металлопептидазы типов M4 и M13; гены, кодирующие биосинтез и сборку полярного и латерального жгутиков (50 и 40 генов, соответственно); гены, детерминирующие формирование Тар и MSHA пилей (23 и 17 генов, соответственно). Кроме этого, в геноме *A. veronii* БИМ В-1812 обнаружены гены эффлюксных насосов семейств MATE, RND, MFS, DMT, SMR и ABC, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью, а также гены *cpxA3* и *blaOXA*, кодирующие белки классов B2 металло-β-лактамаз и D β-лактамаз, соответственно. Гены, кодирующие факторы вирулентности и антибиотикорезистентность, имеют хромосомную локализацию.

Полученные данные расширяют знания о патогенном потенциале бактерий *A. veronii*.



Экстраклеточные низкомолекулярные фосфонаты пектобактерий как факторы, определяющие состояние растительно-микробной патосистемы

О.И. Парфирова^{1*}, О.Е. Петрова¹, Е.Д. Сыромятникова¹, А.В. Смолобочкин², В.Ю. Горшков^{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

* e-mail: parfirovaolga.i@gmail.com

Взаимодействие пектобактерий с растением может выражаться не только развитием мягких гнилей, но и бессимптомными инфекциями, при которых патоген и хозяин мирно сосуществуют. То, по какому сценарию будет развиваться патосистема, во многом определяется метаболитами патогена; однако у пектобактерий такие метаболиты почти не описаны. В связи с этим, мы проводили поиск экстраклеточных метаболитов фитопатогена *Pectobacterium atrosepticum*, принимающих участие в растительно-микробном взаимодействии, и оценивали их роль в развитии растительно-микробных патосистем.

С помощью транскриптомного анализа мы выяснили, что при колонизации растения-хозяина повышается уровень экспрессии генов пектобактерий, аннотированных как ферменты биосинтеза фосфонатов. Ранее у пектобактерий не были детектированы и описаны эти метаболиты.

При помощи ³¹P ЯМР-спектроскопии нами была показана способность пектобактерий продуцировать низкомолекулярные экстраклеточные фосфонаты. Мутант с делецией гена *fom1*, кодирующего ключевой фермент биосинтеза фосфонатов, не продуцировал эти метаболиты; но способность к синтезу фосфонатов восстанавливалась у компенсаторного мутантного штамма, несущего целевой ген *fom1* в составе плазмиды.

Было установлено, что синтез фосфонатов зависит как от присутствия индукторов растительного происхождения, так и от функционирования системы межклеточной коммуникации патогена. Данные две системы 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 ферментов пектацтиаз, разрушающих пектиновые вещества растительных клеточных стенок.

Таким образом, мы установили, что фосфонаты, подавляя активность ключевых факторов вирулентности, вносят вклад в пролонгирование бессимптомной стадии взаимодействия пектобактерий и растений.



Характеристика новых плазмид природных штаммов рода *Pseudomonas*

М.А. Петрова^{1*}, М.М. Ликанэ²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, РФ

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, РФ

* e-mail: mpetrova-img@yandex.ru

Плазмиды играют центральную роль в адаптации и эволюции бактерий и, в частности, в распространении генов антибиотикорезистентности. Разнообразие природных плазмид далеко не исчерпано, что представляет интерес для фундаментальной науки. Одновременно с этим изучение природных плазмид важно и с прикладной точки зрения, так как природные плазмиды могут попадать в клинические штаммы и участвовать в распространении генов вирулентности и устойчивости к антибиотикам.

Нами были исследованы крупные конъюгативные плазмиды из двух устойчивых к солям ртути штаммов псевдомонад, KR2-4 и Ps5, выделенных из почв неподалеку от ртутных месторождений. Для обоих штаммов были проведено полногеномное секвенирование и сборка содержащихся в них плазмид. Биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей обеих плазмид показал, что они относятся к разным ранее неизвестным группам несовместимости. Обе плазмиды содержат гены устойчивости не только к ртути, но также к меди и кобальту/цинку/кадмию. В базе GenBank обнаружено 8 плазмид из природных штаммов *Pseudomonas*, родственных рKR2-4, большинство из которых также содержат гены устойчивости к различным тяжелым металлам. Плазмида рPs5 является уникальной, и все гены ее базового района, а также большинство генов дополнительного района имеют очень отдаленное сходство с известными генами. С помощью серии конъюгативных скрещиваний было показано, что обе плазмиды имеют ограниченный круг хозяев и не способны реплицироваться в штаммах, относящихся к филогенетически удаленным группам *Pseudomonas*. Причем, рKR2-4 с одинаковой частотой $0,8 \cdot 10^{-5}$ – $5,7 \cdot 10^{-4}$ переходит как в штаммы из группы *P. fluorescens*, так и в более отдаленные группы, тогда как частота переноса рPs5 снижается в зависимости от филогенетической удаленности реципиентного штамма с $4,3 \cdot 10^{-1}$, в штаммы *P. fluorescens*, до $4,4 \cdot 10^{-3}$ до $5,4 \cdot 10^{-6}$ – в штаммы из более отдаленных групп.

Работа проведена в рамках выполнения Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Исследование бактериального разнообразия кишечника Дальневосточного трепанга (*Apostichopus japonicus*)

Е.О. Писарева^{1*}, Е.А. Богатыренко¹, Т.И. Дункай^{1,2}

¹ Дальневосточный Федеральный Университет, Владивосток, Россия

² Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

* e-mail: katyapir75@gmail.com

Дальневосточный трепанг *Apostichopus japonicus* – важный объект промысла в морях Дальнего Востока, один из самых востребованных на международном рынке морепродуктов [2]. Согласно последним научным исследованиям, микробиом кишечника является ключевой частью пищеварительной, метаболической и защитной систем *A. japonicus* [1,3].

Для изучения бактериального разнообразия трепанга в сентябре 2023 года было собрано по 10 взрослых особей *A. japonicus* из трех акваторий залива Петра Великого (Японского море). Из гомогената кишечника каждой особи выделяли суммарную ДНК с использованием коммерческого набора «НК сорбент Base» (Литех) с модификацией. Амплификацию ДНК матрицы из образцов проводили с использованием праймеров 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3) и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), содержащих адаптерные последовательности (Illumina) специфичных для области V3-V4 гена 16 рРНК. Секвенирование проводили на секвенаторе HiSeq «Illumina» (США).

Преобладающими филумами микробиома кишечника всех исследуемых районов *A. japonicus* оказались Proteobacteria, Actinobacteria и Firmicutes. Также были обнаружены Campylobacterota, Bacteroidota и Desulfobacterota. Доминирующими классами стали Alphaproteobacteria, Gammaproteobacteria и Actinobacteria, чуть менее представлены Bacilli и Campylobacteria.

Изучение таксономического состава и функций микробиома кишечника трепанга имеет большой потенциал как для восстановления численности природных популяций, так и для аквакультуры. Результаты исследований в дальнейшем могут быть использованы для оценки состояния здоровья голотурии, а также для создания пробиотических препаратов на основе симбионтной микрофлоры для улучшения показателей роста животных и борьбы с инфекционными заболеваниями.

Работа выполнена при финансовой поддержке ДВФУ (Программа стратегического академического лидерства «Приоритет-2030»: Мировой океан).



Метагеномные сборки геномов показали биотехнологический потенциал микроорганизмов гиперсоленых озер Крыма

Д.В. Пошвина^{1}, Е.А. Герасимова², С.В. Кравченко¹*

¹ Лаборатория антимикробной резистентности, Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО), Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

² Лаборатория «AquaBioSafe», Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия

* e-mail: dvposhvina@mail.ru

Соленость - специфический фактор окружающей среды, способствующий метаболической адаптации галофильных микроорганизмов для их выживания при минимальных требованиях к питанию. Микроорганизмы, обитающие в таких экстремальных условиях, обладают способностью продуцировать уникальные биоактивные вещества, которые могут быть использованы в биотехнологии. В работе проведен анализ метагеномных данных гиперсоленых озер Крымского полуострова (Сакское, Тобечикское, Аирчинское, Красное, Киятское, Аджибачийское, Чокракское) с целью реконструкции метагеномных сборок геномов (MAGs) и функционального анализа практически значимых свойств микроорганизмов. В результате анализа метагеномов, собранных MEGANIT v1.0.6, было реконструировано 215 геномов (MAGs) с использованием MaxBin v2. По данным оценки качества и полноты сборок для дальнейшего анализа отобрано 114 геномов с полнотой сборки >50% и контаминацией <10%. Филогенетическая классификация отобранных MAGs, проведенная с помощью базы данных GTDB показала, что 38,59% и 61,41% MAGs были отнесены к доменам Archaea и Bacteria, соответственно. Домен Archaea представлен семействами Haloferacaceae – 24, Haloarculaceae – 16, и Candidatus Nanohalobiaceae – 4. У домена Bacteria из 70 MAGs 24 семейства Ectothiorhodospiraceae, 12 - Roseobacteraceae, 10 - Flavobacteriaceae, 6 - Microbacteriaceae, 4 - Bacillaceae, 3 - Paracoccaceae, 3 - Pseudomonadaceae, 2 - Salinibacteraceae, по одному геному Streptomycetaceae, Vibrionaceae, Rhizobiaceae, Piscirickettsiaceae, Marinobacteraceae и Enterobacteriaceae. Анализ кластеров генов биосинтеза вторичных метаболитов (BGC), проведенный с помощью antiSMASH, выявил широкий спектр структурных классов BGC, включая поликетиды (PKS), терпены, эктоин, бактериоцины, арилполиены, тиопептиды и другие. Учитывая, что antiSMASH смог предсказать ограниченное число BGC в последовательностях MAGs, это свидетельствует о высоком потенциале обнаружения новых вторичных метаболитов в исследуемых озерах.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на 2024-2026 годы (№ FEWZ-2024-0005).



Метилотрофные микроорганизмы в составе эпифитной микрофлоры растений природных и антропогенных ландшафтов Карелии

*А.И. Савушкин¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет» (ПетрГУ), Петрозаводск, Россия

* e-mail: fagafon@yandex.ru

Метилотрофные микроорганизмы, представители эпифитной микрофлоры растений представляет собой многокомпонентную систему взаимодействия между различными видами микроорганизмов и растительным организмом. Состав эпифитной микрофлоры метилотрофов может быть специфичным для каждого вида растений и зависит от множества факторов, таких как возраст растения, условия произрастания и климатические особенности региона. Метилотрофные бактерии - постоянные обитатели филлосферы различных дикорастущих и культурных растений, представителей природных и антропогенных ландшафтов Карелии. Они используют окисленные и замещённые производные метана в качестве источников углерода и энергии. Исследования структурной организации ассоциативного симбиоза аэробных метилотрофных микроорганизмов филлосферы, их таксономического разнообразия позволяют лучше понять механизмы взаимодействия микроорганизмов и их влияние на рост и развитие растений. Это может способствовать разработке новых методов управления и оптимизации процессов выращивания растений, а также повышению их устойчивости к неблагоприятным условиям окружающей среды.

Объектами исследования служили изоляты метилотрофных микроорганизмов выделенные с поверхности листьев, почек и корней, образцы которых собирались среди дикорастущих растений в Карельском регионе, а также в городской зоне (г. Петрозаводск). Для выделения и культивирования микроорганизмов использовали следующие питательные среды: К, К1, 5/5, R2A, LB, раствор витаминов – V10, метанол. Также использованы методы количественной полимеразной цепной реакции и масс-спектрометрии с применением MALDI-TOF (времяпролётного спектрометра с матрикс-связанной лазерной десорбцией/ионизацией) для видовой идентификации выделенных из микробных консорциумов метилотрофных микроорганизмов. В результате исследования выделены чистые культуры аэробных и факультативно анаэробных видов метилотрофов филлосферы, а также изучено их биоразнообразие.



Глутамин-N,N-диуксусная кислота - новый хелатирующий агент для удобрений: биоразлагаемость, влияние на растения и их эндосферный микробиом

Г.Ш. Галиева¹, П.А. Курынцева^{1}, П.Ю. Галицкая¹, С.Ю. Селивановская^{1*}*

¹ Институт экологии и природопользования, Казанский федеральный университет, Казань, Россия

* e-mail: polinazwerewa@yandex.ru

* e-mail: svetlana.selivanovskaya@kpfu.ru

Поиск новых биоразлагаемых удобрений для повышения продуктивности сельскохозяйственных растений является актуальной задачей. В данном исследовании было оценено комплексное удобрение на основе хелатирующего агента - глутамин-N,N-диуксусной кислоты (ГЛДА). Оценка включала оценку биоразлагаемости и эффективности стимулирования роста растений Салата латук в условиях гидропоники и почвы. Дополнительно была произведена оценка влияния хелатного удобрения на основе ГЛДА на эндосферные бактерии Салата латук, как чувствительного индикатора внешнего воздействия. Степень деградации комплексного хелатного удобрения на основе ГЛДА составила 59,8% на 28-й день. Наиболее заметные положительные эффекты наблюдались в отношении надземной биомассы растений: увеличение в 4,6 раза в условиях гидропоники и в 1,5–1,8 раза при корневом и листовом внесении в условиях почвенного эксперимента. Численность эндосферного растительного микробиома составила 24 и 45 ОТЕ для листьев и 272 и 258 ОТЕ для корней растений обработанных комплексным удобрением на основе ГЛДА и контрольных растений. Анализ данных методами неметрического многомерного шкалирования и анализа индикаторных видов показаны существенные различия в эндосферных сообществах растений, выращенных на разных субстратах (гидропонный раствор, почва) и с разными видами обработки (ГЛДА, контрольная группа). Стоит отметить, что использование комплексного хелатного удобрения на основе ГЛДА упростило состав эндосферных бактериальных сообществ растений.



Штамм бактерий *Acinetobacter johnsonii* A1 для повышения урожайности зерновых культур

М.Л. Сидоренко^{1*}

¹ Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

* e-mail: sidorenko@biosoil.ru

Выявлен новый природный штамм *Acinetobacter johnsonii* A1, который обладает значительной азотфиксирующей способностью, а также фитопротекторной и ростостимулирующей активностью. Штамм *A. johnsonii* A1 выделен из пахотных почв (Приморский край, Россия) путем прямого высева на агаризованную среду Эшби при 22-25°C и депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ В-13867. Штамм идентифицировали с применением молекулярно-генетических методов. Изучены культурально-морфологические и биохимические особенности штамма. Расширенное изучение биохимических свойств штаммов было проведено с использованием стрипов API 50 CHL (Biomegeux, Франция). На агаризованной среде Эшби штамм образует округлые, гладкие, выпуклые, блестящие непрозрачные колонии белого цвета с ровными краями, центр не выражен. В мазке обнаруживаются палочки размером 0,5-1,0×1,0-3,0 мкм, грамтрицательные, подвижны. Каталазаположительные. Оксидазоотрицательные. Строгие Аэробы. Утилизируют соли аммония и нитраты, используют глюкозу, Л-арабинозу, ксилозу, рибозу. Активность фиксации азота определяли ацетиленовым методом с помощью газового хроматографа. Установлена азотфиксирующая способность культуры на уровне 5,4 нМ C₂H₄/ч. Ростостимулирующее и фитопротекторное действие изучали посредством выявления потенциального эффекта исследуемых бактерий при воздействии на прорастание семян злаковых растений. В результате наблюдали увеличение энергии прорастания и лабораторной всхожести семян в среднем на 20-22 и 18-20%, соответственно. Отмечена 100% фунгицидная и бактерицидная активность исследуемого штамма бактерий. С помощью методов сканирующей электронной микроскопии установлено, что клетки бактерий активно заселяют корни прорастающих семян. Штамм устойчив к основным пестицидам и гербицидам, используемым на полях. Таким образом штамм бактерий *Acinetobacter johnsonii* ВКПМ В-13867 может быть использован для оздоровления биоценоза почвы и повышения урожая зерновых культур.



Структурная организация ассоциативного симбиоза на примере интестинальной микрофлоры радужной форели

Н.А. Сидорова¹, А.И. Савушкин¹*

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Россия
* e-mail: vanlis@petrsu.ru

Микрофлора кишечника относится к одному из самых разнообразных сообществ любого макроорганизма, обладает уникальными биологическими свойствами и отличается особой формой организации на уровне ассоциативного симбиоза. Интестинальная бактериофлора обладает множественным набором функций от участия в регуляции конструктивного и энергетического метаболизма до способности к синтезу нейромедиаторов, антагонизму в отношении условно-патогенных и патогенных видов микроорганизмов. Несмотря на большое значение интестинальной бактериофлоры для жизнедеятельности макроорганизма, у высокопродуктивных представителей аквакультуры она изучена односторонне, в основном с позиции видового разнообразия. Между тем, информация о взаимоотношениях между макропартнером, доминантными и минорными симбионтами может являться базовой для изучения сложных физиологических механизмов адаптации рыб к средовым факторам различного генеза.

Целью данного исследования стало изучение структурных особенностей сложного сообщества кишечной бактериофлоры радужной форели. Методами классического культивирования бактерий, количественной ПЦР и масс-спектрометрии с использованием технологии MALDI-TOF среди представителей исследуемого сообщества были выделены и идентифицированы аэробные и факультативно-анаэробные виды. Получены первичные данные по структурной организации ассоциативного сообщества. Для константных таксонов впервые описана последовательная смена доминантных, субдоминантных и минорных микросимбионтов с увеличением возраста макропартнера. Полученные данные могут быть использованы, как для объективной оценки состояния организма аквакультурных видов, так и для таксации неспецифической резистентности рыб к повреждающим факторам среды.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 322-23 (Соглашение № 23-16-20026), проводимого совместно с Республикой Карелия с финансированием из Фонда венчурных инвестиций Республики Карелия (ФВИ РК).



Выживание в организме хозяина: протеогеномное исследование адаптивных свойств клинических изолятов *Mycoplasma hominis*

К.В. Сикамов^{1,2*}, О.В. Побегуц¹, М.А. Галямина¹, Д.Р. Уразаева^{1,2}, А.С. Авшалумов^{1,2},
М.В. Михайлычева^{1,2}, В.В. Бабенко¹, И.П. Смирнов¹, А.Ю. Горбачев¹

¹ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва, Россия

² Московский физико-технический институт (НИУ), Москва, Россия

* e-mail: sikamov2000@gmail.com

Введение. *Mycoplasma hominis* (*M.hominis*) из класса Молликут, характеризующаяся редуцированным геномом и отсутствием клеточной стенки, плохо изучена и механизмы ее адаптации в организме хозяина неизвестны.

Цель. Провести сравнительный анализ фенотипа и протеогеномного профиля восьми клинических изолятов *M.hominis* от пациентов с урогенитальными инфекциями и лабораторного штамма Н-34.

Методы. Геномное секвенирование проводилось на секвенаторе MGISEQ–2000 и PromethION. Сборка геномов осуществлялась при помощи Unicycler, а аннотация геномов – с помощью Bakta и BLAST. Протеомный анализ проводился с использованием Ultimate 3000 RSLCnano HPLC и Q Exactive Plus. Для обработки протеомных данных использовался QuantMS с базой данных на основе генома штамма Н-34. Для постобработки данных использовался скрипт на R.

Результаты. Исследуемые штаммы *M.hominis* демонстрируют два фенотипа, коррелирующих с их протеогеномным профилем. Геномный анализ выявил различия в мобильных элементах, в однонуклеотидных заменах генов метаболизма, генов мембранных белков и в структуре систем рестрикции-модификации I типа. Протеомный анализ показал снижение уровня белков клеточного деления, репликации, трансляции и энергетического метаболизма у клинических изолятов по сравнению со штаммом Н-34. Обнаружены уникальные белки в клинических изолятах, такие как метилтрансфераза HsdM, что указывает на возможное участие метилирования ДНК в регуляции механизмов адаптации.

Выводы. Протеогеномный анализ показал возможность разделения исследуемых штаммов на две группы, связанные с их фенотипом. Различия обусловлены процессами адаптации в стрессовых условиях организма хозяина, возможно, с участием метилирования ДНК.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00189.

Результаты данной работы были опубликованы: Pobeguts O.V. [et al.]. Unraveling the adaptive strategies of *Mycoplasma hominis* through proteogenomic profiling of clinical isolates // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2024. (14).



Влияние инокуляции штамма *Stenotrophomonas rhizophila* GMG1156 на рост и экспрессию генов пшеницы в условиях абиотического стресса

Е.А. Соколова^{1*}, И.Н. Троменшлегер¹, Е.В. Чуманова², О.В. Мишукова¹,
И.В. Хлестун¹, Е.Н. Воронина¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

² Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

* e-mail: sokolovaea2608@yandex.ru

Среди PGPR особый интерес представляет вид *Stenotrophomonas*, стимулирующий рост растений в стрессовых условиях, в частности в условиях засоления почв, а также подавляющий ряд заболеваний растений, вызывая индуцированную системную устойчивость (ISR). Также сообщалось, что *S.rhizophila* обладает определенными генами, ответственными за полезное взаимодействие растений и микроорганизмов, транспорт осмопротекторов, активность биоконтроля и колонизацию.

В этом исследовании мы предприняли попытку изучить потенциал галотолерантного штамма *Stenotrophomonas rhizophila*, для стимулирования роста растений пшеницы в условиях солевого стресса, стресса засухи, а также недостаток освещения.

GMG1156 (штамм *S.rhizophila*, депонированный в коллекции института) показал увеличение надземной массы растения на 38% ($p=0,004$) по сравнению с контролем. В ответ на стрессовые факторы у растений регулируется разными генами, в том числе WRKY, ARF, CKX10. Мы провели анализ экспрессии генов, участвующих в метаболизме фитогормонов (ARF2, CKX10, ERFL1a) и реакции растения на стресс (WRKY71) в корнях проростков пшеницы при добавлении GMG1156. Исследование показало, что по сравнению с контролем при внесении GMG1156 в корневой системе активируется система ответа на стрессовые факторы. Для выявления генов, наделяющих *S.rhizophila* полезными характеристиками для использования в сельском хозяйстве, был проведен полногеномный анализ методом NGS.

Исследование было поддержано грантом Минобрнауки РФ № 075-15-2021-1085 «Всероссийский атлас почвенных микроорганизмов, как основа для поиска новых противомикробных продуцентов и ферментов с уникальными свойствами».



РП-независимый контроль активности N-ацетил-L-глутаматкиназы *Ostreococcus tauri*

В.Р. Статинов^{1*}, Т.В. Лапина¹, Е.В. Ермилова¹

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

* e-mail: st067882@student.spbu.ru

У изученных ранее представителей Chlorophyta ключевым ферментом в контроле биосинтеза аргинина является N-ацетил-L-глутаматкиназа (NAGK), которая у цианобактерий и высших растений регулируется сигнальным белком из семейства РП. Однако анализ геномов Archaeplastida, имеющихся в базах данных, позволил нам выявить отсутствие белка РП у целого ряда представителей зеленых водорослей, в том числе у самого маленького из известных свободноживущих эукариот *Ostreococcus tauri*, сопоставимого по размерам с бактериями. В этой связи возник вопрос о том, как осуществляется регуляция биосинтеза аргинина у *O. tauri* в отсутствие РП.

Последовательность NAGK *O. tauri* демонстрирует от 60% идентичности и выше последовательностям других ферментов семейства. Однако поскольку водоросль утратила в процессе эволюции ген, кодирующий РП, то неудивительно, что в последовательности NAGK произошли замены всех аминокислотных остатков, которые вовлечены у других N-ацетил-L-глутаматкиназ во взаимодействие с сигнальным РП-белком. Наше исследование *in vitro* показало, что OtNAGK имеет каталитическую константу (k_{cat}) - 29.17 с⁻¹ и концентрацию полумаксимального ингибирования аргинином (IC₅₀) - 0.3 мМ.

Ранее была выявлена роль NO у Chlorophyta в посттрансляционной модификации (ПТМ) белков путем нитрозирования. Нами впервые установлено, что у *O. tauri* этой ПТМ подвергается NAGK. Т.о., особенность OtNAGK состоит в том, что этот белок способен к ПТМ по типу нитрозирования.

Следует подчеркнуть, что аргинин используется клетками *O. tauri* не только для биосинтеза белков, но также служит субстратом при формировании оксида азота (NO), высокие уровни которого могут быть токсичны для клеток. Выявлено снижение активности фермента в клетках при повышении уровней внутриклеточного NO. По нашему мнению, используя ПТМ NAGK, клетки пиководоросли осуществляют тонкую настройку синтеза уровней аргинина и как результат – уровней NO.



Микробиологический состав зоогумуса *Tenebrio molitor*

Г.И. Сутула^{1*}, С.И. Лоскутов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок - филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: capitals2016@yandex.ru

В настоящее время увеличивается интерес к промышленному разведению насекомых, в частности *Tenebrio molitor*. Личиночная стадия данного насекомого характеризуется повышенным содержанием белка и жирных кислот, высокой конверсией корма. Одним из основных направлений по применению большого мучного хрущака в промышленности является создание биоудобрений на основе его экскрементов. В данном исследовании был проведен анализ микробиологического состава зоогумуса *T. molitor* с целью обнаружения бактерий, способных повлиять на рост, развитие, продуктивность и стрессоустойчивость растений. Личинки *T. molitor* выращивались в инсектарии, в качестве корма использовались пшеничные отруби. Для получения зоогумуса фильтровалось содержимое контейнеров, в которых выращивались насекомые, после чего проводились микробиологические смывы на чашки Петри со средой МПА. Далее описывалась морфология образовавшихся колоний, осуществлялось выделение ДНК и проводился электрофорез. Амплификация последовательности гена 16S рРНК и секвенирование проводились в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ. Идентификация микроорганизмов осуществлялась с помощью онлайн-сервера BLAST. В результате идентифицировано 6 бактерий, впервые обнаруженных в экскрементах *T. molitor*: *Heyndrickxia sporothermodurans*, *Bacillus velezensis*, *Lederbergia ruris*, *Acinetobacter courvalinii*, *Rothia dentocariosa*, *Pseudomonas oryzae*. Среди них наиболее перспективной в рамках задачи по повышению продуктивности и стрессоустойчивости является *B. velezensis*, способная продуцировать метаболиты, защищающие растения от воздействия патогенов – липопептиды и поликетиды. Таким образом, на основе *B. velezensis* можно создать эффективный биопрепарат в качестве альтернативы синтетическим агрохимикатам.

Работа выполнена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2024-0010 и № FGUS 2022–0018 научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.



Структурно-функциональная характеристика Svх металлопротеаз – факторов вирулентности фитопатогенных пектолитических бактерий

Н.В. Тендюк¹*, А.А. Дьяконова¹, О.Е. Петрова¹, Т.А. Мухаметзянов²,
О.Н. Макшакова¹, В.Ю. Горшков²

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

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

* e-mail: natalya.tendyuk@mail.ru

Пектолитические бактерии родов *Pectobacterium* и *Dickeya* вызывают такие заболевания растений как черная ножка и мягкая гниль. Для индукции патологического процесса этим бактериям необходимо синтезировать различные факторы вирулентности, в том числе экстраклеточные белки Svх, функции которых остаются неисследованными. Целью нашей работы было провести структурно-функциональную характеристику белка Svх *Pectobacterium atrosepticum* и двух белков-гомологов Svх *Dickeya solani* и выяснить, каким образом эти белки участвуют в развитии инфекционного процесса у растений-хозяев. С помощью биоинформатических подходов нами показано, что белки Svх имеют два функциональных домена: протеазный и ацилтрансферазо-подобный, которые образуют электроотрицательно заряженные карманы, где расположены каталитические центры протеазных доменов, образованные цинк-связывающими мотивами и углевод-связывающими аминокислотными остатками. Для подтверждения того, что белки Svх *P. atrosepticum* и *D. solani* являются цинк-зависимыми протеазами получены их очищенные препараты. У полученных рекомбинантных белков была выявлена протеазная активность, которая увеличивалась при добавлении ZnSO₄ и снижалась в присутствии ЭДТА. В результате докинга модели белка Svх с предполагаемыми лигандами выяснено, что потенциальными субстратами Svх-протеаз могут быть экстенсины – структурные альфа-гликозилированные белки растительной клеточной стенки. Определены физиологические эффекты исследуемых белков; показано, что они сдерживают индуцируемое элиситорами накопление перекиси водорода в растениях (то есть обладают иммуносупрессорными свойствами), а также индуцируют этилен-регулируемые ответы растений, которые определяют их восприимчивость к пектолитическим патогенам. Таким образом, нами продемонстрировано, что белки Svх пектолитических бактерий являются консервативными металло-протеазами, играющими важную роль в координировании физиологических процессов растений-хозяев.

Работа выполнена при поддержке Госзадания.



Создание транспластомных штаммов *Chlamydomonas reinhardtii*, продуцирующих рекомбинантные двуцепочечные РНК против вредителей

А.К. Турсунова^{1*}, Ю.М. Ефремова²

¹ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж. Жиембаева», г. Алматы, Казахстан

² ТОО «Казахский научно-исследовательский институт плодовоощеводства», г. Алматы, Казахстан
* e-mail: alnura_89.12.12@mail.ru

Трансгенные технологии произвели революцию в сельском хозяйстве, предложив новые подходы к борьбе с вредителями. В данном исследовании мы представляем новаторскую стратегию использования транспластомических микроводорослей для производства рекомбинантной двуцепочечной РНК (дцРНК), направленной против насекомых-вредителей. Микроводоросли обладают рядом преимуществ в качестве биореактора, включая быстрые темпы роста, простоту генетических манипуляций и масштабируемость.

Наиболее распространенным и разрушительным вредителем картофеля является колорадский жук (КЖ) (*Leptinotarsa decemlineata*). При отсутствии мер борьбы урожай может быть полностью уничтожен. Однако известно, что проглатывание двуцепочечной РНК (дц-РНК), сконструированной для важного гена, может привести к гибели насекомого. Это связано с поглощением дц-РНК в кишечнике и запуском процесса РНК-интерференции в клетках насекомого. Хотя такие дц-РНК могут быть получены *in planta* путем создания трансгенных линий картофеля, более простой стратегией было бы опрыскивание растений съедобной, биоинкапсулированной формой дц-РНК. Мы изучаем потенциал микроводорослей GRAS, таких как *Chlamydomonas reinhardtii*, в качестве недорогих клеточных фабрик для производства дц-РНК, причем биомассу высушивают, чтобы получить стабильный и безопасный материал.

Мы разработали векторы трансформации хлоропластов на основе пар конвергентных эндогенных промоторов, которые должны обеспечивать эффективный синтез дц-РНК в хлоропластах *C. reinhardtii*. Часть гена колорадского жука Ld.ACT, кодирующего актин (важный компонент эукариотических клеток), была клонирована в эти векторы и использована для создания транспластоматических линий. Интеграция конструкции Ld.ACT и гомоплазмия сконструированного генома хлоропласта были подтверждены методом ПЦР. Количественная ОТ-ПЦР используется для определения уровня накопления дц-РНК перед лабораторными испытаниями высушенных водорослей в качестве биоинсектицида.



Молекулярная характеристика и скрининг *cry* генов на основе ПЦР штаммов *Bacillus thuringiensis*

А.К. Турсунова¹, Ш.М. Турбекова^{1*}, А. Айнур¹, Б.А. Дуйсембеков¹

¹ ТОО «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений им. Ж. Жиёмбаева», г. Алматы, Казахстан
* e-mail: shyrynka_turbekova@mail.ru

Bacillus thuringiensis (*Bt*) - грамположительная спорообразующая бактерия, известная производством инсектицидных кристаллических белков, кодируемых генами *cry*. Эти *cry*-белки широко используются в сельском хозяйстве в качестве биопестицидов благодаря своей специфичности и эффективности против различных насекомых-вредителей. В данном исследовании мы провели молекулярную характеристику и скрининг на основе ПЦР генов *cry* у штаммов *Bt*, выделенных из различных экологических ниш Казахстана.

Коллекция штаммов *Bt* была получена из почвы, поверхности растений и трупов насекомых. Из этих штаммов выделяли геномную ДНК и проводили ПЦР-амплификацию с использованием праймеров, нацеленных на консервативные области известных *cry*-генов.

Амплификация продуктов ПЦР ожидаемого размера в разных парах праймеров указывает на присутствие вышеуказанных генов *cry*-типа в штаммах *Bt*. Праймеры типа *cry3*, *cry5* и *cry7-8* и *cry11* не показали никакой амплификации при скрининге *cry*-генов. Штаммы содержащие гены *cry1*-типа и *Vip3A*, были наиболее многочисленными (100%) среди местных *Bt*-штаммов, за ними следуют *cry2* (84%), *cyt2* (32%), *cry4* (19%). Наши результаты показали наличие разнообразного набора *cry*-генов у штаммов *Bt*, что отражает генетическое разнообразие этого вида. Скрининг на основе ПЦР успешно выявил *cry*-гены, связанные с инсектицидной активностью против вредителей.

Данное исследование подчеркивает важность молекулярных методов для быстрого и точного обнаружения *cry*-генов в штаммах *Bt*, что облегчает их использование в стратегиях борьбы с вредителями. Всестороннее понимание разнообразия и распространения *cry*-генов способствует разработке новых биопестицидов с повышенной эффективностью и специфичностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан по теме ИРН АР 14871184 «Создание отечественного биоинсектицида на основе бактерии *Bacillus thuringiensis* для контроля чешуекрылых вредителей в условиях Казахстана».



Биотехнологический потенциал полисахаридов галофильных бактерий соленых озер

Ю.П. Федоненко^{1}, Н.С. Величко¹, М.С. Кузина¹, Е.Н. Сигида¹, В.С. Гринев^{1,2}, С.А. Коннова^{1,2}*

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

² Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов, Россия

* e-mail: fedonenko_yu@ibppm.ru

Галофильные микроорганизмы являются привлекательным объектом биотехнологических исследований благодаря уникальным свойствам, сформировавшимся в процессе адаптации к экстремальным условиям жизни. Доминирующими организмами в экологических нишах с высоким содержанием солей, включающими гиперсоленые озера и солончаковые почвы, а также антропогенные экосистемы с повышенным уровнем минерализации, являются представители архей и бактерий семейств *Alcaligenaceae*, *Vacillaceae*, *Halobacteriaceae*, *Haloferacaceae*, *Halomonadaceae*, *Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae* и др. Их биотехнологическое применение в настоящее время ограничивается производством биопластиков на основе полигидроксиалканоев, эктоинов, ферментов и поверхностно-активных веществ. Другие перспективные варианты использования галофильных микроорганизмов – очистка соленых и гиперсоленых сточных вод, а также производство экзополисахаридов, биотоплива, активно исследуются.

В докладе будут представлены результаты по выделению и характеристике полисахарид-продуцирующих галотолерантных и галофильных микроорганизмов, выделенных из образцов соли соленых озер Крыма (Сасык-Сиваш) и Поволжья (Эльтон, Боткуль и Булухта), а также анализу структурно-функциональных особенностей, продуцируемых ими гликополимеров. Особое внимание будет уделено экстраклеточным полифруктанам леванового типа и спектру их биотехнологического использования, а также оптимизации условий культивирования продуцентов с целью увеличения выхода целевого полимера. Отработанная методология изоляции и идентификации микроорганизмов может быть востребована для выявления полисахарид-продуцирующих экстремофилов из различных природных источников.

Исследование выполнено в рамках проекта Российского научного фонда № 24-24-00407 (<https://www.rscf.ru/project/24-24-00407/>).



Разработка, характеристика и трансфер банков клеток штаммов-продуцентов биотехнологических продуктов на примере *E.coli*

З.Р. Хасаншина^{1*}, Е.А. Буслаева¹, Л.М. Кряжевских¹

¹ Закрытое акционерное общество "Фарм-Холдинг" (RnD ГЕРОФАРМ), Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: zuhra.hasanshina@geropharm.com

В области производства биологических препаратов штаммы-продуценты играют решающую роль в разработке жизненно важных методов лечения. В производстве используется двухуровневая система банков клеток: МСВ (Главный банк клеток), получают из РСВ (Предварительный банк клеток). Из МСВ получают WCB (Рабочий банк клеток). Выделяют ЕоР СВ (клетки предельного для производства клеточного возраста *in vitro*), который получают из WCB, выращенных в условиях промышленного производства. РСВ получают из первоначального клона, характеризуют и передают на производство, где он проходит входной контроль и из него получают МСВ и WCB в GMP условиях. Характеристика банков включает тестирования для оценки подлинности и качества продукта. Основные рекомендации определены регулируемыми органами, таким как Евразийский экономический союз, Международный совет по гармонизации и т.д. Тестирование на чистоту требует определения наличия посторонней микрофлоры, литических и лизогенных бактериофагов. Подлинность генетической конструкции определяется рестрикционным картированием и секвенированием. Идентичность штамма обозначает проверку происхождения и подтверждение подлинности. Она определяется генотипическими и фенотипическими характеристиками (окраска по Граму, R-S диссоциации, секвенирование, оценка ростовых характеристик). Тестирование жизнеспособности и стабильности имеет решающее значение для поддержания стабильности производимых продуктов. Для этого определяют структурную и сегрегационную стабильность пДНК. Изучают жизнеспособность клеток и продуктивность. Оценивается генетическая стабильность (секвенирование и копияемость пДНК). Таким образом, наилучший подход – выбор научно-обоснованной методологии к получению и характеристике банков клеток и тщательное документирование шагов на протяжении всего процесса разработки продуцента. Данная работа посвящена описанию процесса создания, характеристики и трансфера банков клеток на примере *E. coli* для производства биотехнологических препаратов.



Микробиом засухоустойчивых растений как резервуар биотехнологически ценных эндофитных бактерий

В.К. Чеботарь^{1*}, Тихонович И.А.^{1,2}

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

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

* e-mail: vladchebotar@arriam.ru

В ближайшем будущем удовлетворение потребностей перенаселенного мира в продовольствии станет наиболее острой проблемой из-за резкой потери пахотных земель в результате засухи. В последнее время стресс от засухи считается важнейшей проблемой, которая негативно влияет на рост, развитие растений и, что более важно, на урожайность. Современное сельское хозяйство нуждается в новых методах повышения устойчивости культурных растений к стрессовым условиям, поскольку именно биотические и абиотические стрессы являются наиболее серьезной причиной снижения урожая. Согласно последним исследованиям, микробиом может регулировать скорость роста, поглощение питательных веществ, устойчивость к абиотическим стрессам и устойчивость к возбудителям у растения-хозяина. Ассоциация растения с эндофитными бактериями оказывает благотворное влияние на рост растений, а также на устойчивость к абиотическим стрессам, т.е. стрессу от засухи. В результате экспедиции собрана коллекция засухоустойчивых и восстанавливающихся после высыхания растений верблюжьей колючки (*Alhagi pseudalhagi* (Bieb.) Fisch.), житняка пустынного (*Agropyron desertorum* (Fisch. exLink) Schult.) и мари белой (*Chenopodium album* L.), произрастающих в экстремально засушливых и засоленных регионах Ставропольского края России (Нефтекумский и Левокумский район). По оригинальной методике из эндосферы корней и стеблей растений выделено 69 штаммов эндофитных бактерий и из филлосферы растений 289 изолятов эпифитных бактерий. Изучены культурально-физиологические (рост при +5+55⁰C, 1-20% NaCl) и функциональные свойства бактерий (амилазная, липазная, протеазная, целлюлазная, азотфиксирующая, фосфатмобилизирующая, фунгицидная, бактерицидная активность, продукция фитогормонов). Отобраны наиболее активные штаммы. В Ведомственную коллекцию полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения депонировано пять штаммов эндофитных и три штамма эпифитных бактерий.



Бактериофаг *Kirovirus kirovense* Kirov и его способность защищать молоко от контаминации *Bacillus cereus sensu lato*

О.А. Казанцева¹, А.В. Скорынина¹, Э.Г. Пилигримова¹, Н.А. Рябова¹, А.М. Шадрин^{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», г. Пушкино, Россия

* e-mail: andrey2010s@gmail.com

Бактериофаги широко признаны в качестве альтернативы традиционным антибиотикам, экспериментально используются при лечении бактериальных инфекционных заболеваний и в пищевой промышленности, поскольку фаги являются одним из возможных решений в борьбе с бактериальными патогенами с множественной лекарственной устойчивостью. В этом исследовании мы описываем новый бактериофаг *Kirovirus kirovense* Kirov, который заражает представителей группы *Bacillus cereus*. *Kirovirus kirovense* Kirov представляет собой фаг широкого круга хозяев, принадлежащий к классу Caudoviricetes. Его хромосома представляет собой линейную двухцепочечную молекулу ДНК длиной 165 667 п.н., которая содержит два коротких прямых терминальных повтора, каждый длиной 284 п.н. Геномная ДНК бактериофага содержит 275 белок-кодирующих генов и 5 генов тРНК. Бактериофаг Kirov демонстрирует способность обеззараживать коровье молоко, предварительно зараженное *B. toyonensis* ATCC 4342 (*B. cereus sensu lato*) при его титре фага в молоке 10⁴ БОЕ/мл. Через 4 ч инкубации с фагом титр бактерий уменьшался с 10⁵ до менее 10² КОЕ/мл.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 22-15-00385.



Видовое разнообразие и ультраструктурные особенности цианобактерий в составе симбиоза с перистыми мхами и после выделения их в культуру

К.А. Шибзухова^{1*}, Г.Б. Бутаева¹, Т.А. Федоренко¹, А.А. Зайцева¹, О.А. Горелова¹, Е.С. Лобакова¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

* e-mail: Shibzuhovaka@my.msu.ru

Синцианозам листостебельных мхов отводится ключевая роль в биологической азотфиксации лесных систем приарктических регионов. Значительный интерес представляет установление видового разнообразия симбиотических цианобактерий (Цб) в составе симбиоза с перистыми мхами и изучение их особенностей.

Цель работы - сравнительный анализ состава Цб на побегах листостебельного мха *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. в окрестностях Беломорской биологической станции МГУ имени Н.А. Перцова.

Оценку разнообразия (метабаркодинг по вариабильному фрагменту V4 гена 16S РНК) Цб и изучение их локализации на побегах мхов проводили сразу после сбора материала с применением световой, люминесцентной, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии. Также из природных образцов на селективной среде BG-11 и BG-110 были получены накопительные культуры, из которых были выделены аксеничные штаммы Цб.

В исследованных образцах мха были обнаружены представители родов *Nostoc*, *Phormidium* и *Scytonema*. Среди доминирующих отмечено значительное количество чтений ASV, идентифицированных как *Nostoc_PCC-73102_3*. В накопительной культуре также были обнаружены представители рода *Nostoc*. Из накопительной культуры был получен аксеничный штамм Цб, который был идентифицирован по генам 16S РНК и *rbcL*. Филогенетический анализ изолята показал близкородственность с *Nostoc_PCC-73102_3*.

По результатам ТЭМ-исследований Цб, ассоциированных со мхом, помимо вегетативных клеток и гетероцист, были обнаружены формы с дефектной клеточной стенкой (ФДКС), а также клетки в трихомах, в которых выявлены оси деления в перпендикулярных направлениях. В аксеничной культуре изолята выявлены многочисленные ФДКС, иногда формирующие целые кластеры.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 23-74-00037).



Анализ инсектицидного потенциала *Serratia marcescens* методом пангеномного анализа

А.Е. Шиков^{1,2*}, Е.В. Гризанова³, А.А. Нижников^{1,2}, К.С. Антонец^{1,2}

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

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

³ Новосибирский государственный аграрный университет, Россия, Новосибирск

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

Несмотря на то, что бактерия *Serratia marcescens* известна как оппортунистический патоген, вызывающий кишечные инфекции, не все штаммы являются патогенами позвоночных. Некоторые изоляты могут обладать инсектицидными свойствами, однако механизмы специфичности выбора хозяина остаются неизученными. В связи с этим, мы провели реконструкцию пангенома *S. marcescens* на основе геномов, приуроченных к разным хозяевам. С помощью полнопангеномного поиска ассоциаций мы выявили 96 пангеномных кластеров, связанных с заражением насекомых. Согласно функциональной аннотации кластеров, адаптация к насекомым-хозяевам связана со вторичным метаболизмом. К примеру, была найдена связь с изохоризматазой и Gsp5-связанной N-ацетилтрансферазой, что потенциально может обладать нейротоксическим эффектом путём нарушения синтеза нейромедиаторов в организме хозяина. Далее мы провели экспериментальный анализ инсектицидной активности пяти коллекционных штаммов *S. marcescens* на 5 отрядах насекомых. Все штаммы обладают токсическим эффектом к полужесткокрылым. При этом штамм 218 поражал ещё три отряда. Для выявления геномных особенностей изолятов мы осуществляли секвенирование геномов методом гибридной сборки. Поиск гомологов пангеномных ассоциаций показал, что штамм 218, а также штамм 189 – единственный изолят, поражающий чешуекрылых – были обогащены инсектицидными факторами. Таким образом, пангеномный анализ позволил определить возможные механизмы заражения бактерией *S. marcescens* насекомых, что подтверждается распределением найденных факторов в геномах перспективных инсектицидных штаммов.

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



Механизмы взаимодействия грибов арбускулярной микоризы с растениями: генетические маркеры симбиотической эффективности и создание коллекции

А.П. Юрков^{1*}, А.А. Крюков¹, Ю.В. Лактионов¹, Ю.В. Косильников¹, А.О. Горбунова¹, Т.Р. Кудряшова¹, А.И. Ковальчук¹, А.И. Горенкова^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия

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

* e-mail: ap.yurkov@arriam.ru

Грибы арбускулярной микоризы (АМ) класса Glomeromycetes являются важным звеном наземных экосистем. При развитии эффективного АМ-симбиоза наблюдается существенное усиление минерального (особенно фосфорного) питания растений, а также адаптивных способностей растений к стресс-факторам среды биотической и абиотической природы. В связи с этим актуальными направлениями исследований являются проводимые лабораторией: 1) поиск новых эффективных штаммов грибов АМ; 2) создание коллекции изолятов грибов АМ; 3) изучение симбиотических свойств штаммов; 4) изучение механизмов, контролирующих развитие эффективного симбиоза АМ-грибов с растениями; 5) поиск генетических маркеров их хозяйственно ценных свойств и разработка биопрепаратов для оптимизации фосфорного питания растений. Для решения этих задач проведена модификация метода молекулярно-генетической идентификации грибов АМ. Показано, что большая часть штаммов коллекции относится к виду-космополиту *Rhizophagus irregularis*. В качестве регионов баркодирования используются 2 региона (ITS1 и ITS2). Применение оптимизированного метода идентификации позволило выявить в полевых условиях 50 видов грибов АМ.

Исследование модельной системы “*Medicago lupulina* + *Rhizophagus irregularis*”, характеризующейся высокой эффективностью АМ, с использованием метода NGS (MACE-Seq) выявило значительное разнообразие эффектов гриба АМ на транскриптом листьев *M. lupulina*. Обсуждается роль окислительно-восстановительного гомеостаза (тиоредоксина), регуляции активности водных каналов (аквапоринов) и генов клеточного ответа на фосфатное голодание (транспортеры фосфата и др.).

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2022-320 от 20.04.2022) для поддержки развития НЦМУ “Агротехнологии будущего”. Исследования выполнены с использованием оборудования центра коллективного пользования научным оборудованием «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ.



Скрининг полифункциональной активности штаммов микромицетов - основа для создания препаратов комплексного действия для защиты растений

Е.Н. Янковская¹*, Д.В. Войтка¹

¹ Республиканское научное дочернее унитарное предприятие «Институт защиты растений»,
Прилуки, Минская область, Беларусь
* e-mail: helena-yan@yandex.ru

Проведены скрининговые исследования штаммов микопатогенов членистоногих из рр. *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria*, *Lecanicillium* по спектру и эффективности действия на энтомологические и фитопатогенные тест-объекты.

Оценка биологической активности штаммов по отношению к тестовым культурам фитопатогенов *in vitro* показала, что наибольшие показатели ингибирования были отмечены по отношению к *Alternaria solani* – 60,0-76,1 %, *Botrytis cinerea* – 61,5-87,1 % и к *Fusarium solani* – 63,0-70,9 %.

Антифунгальное действие энтомопатогенных грибов *in planta* на фоне искусственной инокуляции фитопатогенами пшеницы озимой проявлялось в снижении зараженности растений *A. solani* в, которая составила 48,0-52,0 %, тогда как в контрольном варианте – 86,0 %. Отмечено супрессивное действие штаммов в отношении *F. solani* на фоне искусственного инфицирования семян пшеницы: зараженность составила от 27,5 до 47,0 % (в контроле - 67,0 %).

Тестирование энтомоцидного действия грибов в лабораторных условиях показало, что биологическая активность штаммов по отношению к большой пчелиной огневке *Galleria mellonella* составила 63,0-100,0 %, к фасолевой зерновке *Acanthoscelides obtectus* – 38,9-84,8 %.

В условиях вегетационного эксперимента отмечен высокий уровень активности по отношению к колорадскому жуку *Leptinotarsa decemlineata*: биологическая эффективность применения микопатогенов на 10-е сутки достигала 92,5 %. Биологическая эффективность в полевом опыте в отношении зеленой яблонной тли *Aphis pomi* на 7-е сутки достигала 48,8 %.

Согласно результатам поэтапной скрининговой оценки по комплексу показателей 6 штаммов микромицетов включены в пул биотехнологически перспективных для дальнейшего изучения в качестве основы биологических препаратов полифункционального действия.

Работа выполнена в рамках Государственной программы научных исследований «Сельскохозяйственные технологии и продовольственная безопасность» на 2021-2025 годы подпрограммы 9.1 «Плодородие почв и защита растений».

ТЕЗИСЫ ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF POSTER
PRESENTATIONS



Микробиомы залежных агропочв Северо-Запада России: экологические функции и потенциал

Е.В. Абакумов^{1}, А.К. Кимеклис¹, Г.В. Гладков², Е.Е. Андронов²*

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии

* e-mail: e_abakumov@mail.ru

В настоящее время разрабатывается государственная программа по вторичному вовлечению залежных сельскохозяйственных почв России в сельскохозяйственное использование. Информация о таксономическом и функциональном разнообразии микробных сообществ почв является основой для эффективного их вовлечения в сельское хозяйство. В связи с этим было проведено изучение микробиома и параметров плодородия, а также морфогенеза действующих агроземов, залежных почв и природных фоновых почв Северо-Запада России, формирующихся на различных почвообразующих породах в пределах подзоны южной тайги. Исследованы различные сроки залежности от 30 лет (агропочвы советского периода) до 130 лет. Установлены доминирующие и минорные филумы почвенного микробиома. При этом в хроносерилах профильная дифференциация микробиома происходит с разной скоростью, что зависит от степени горизонтной дифференциации почвы и возраста залежности. Так, наименее консервативны микробные сообщества залежных песчаных агроподзолов, наиболее стабильны во времени микробоценозы залежных карбонатных агропочв. Таким образом, давно известный феномен литорефлекторности педогенеза, наиболее сильно проявляющийся на Северо-Западе ЕТР, касается не только твердофазных проявлений почвообразовательного процесса, но и ключевых биологических параметров почв. Следующим фактором, оказывающим существенное влияние на таксономический состав микробиома является тип постагрогенной траектории развития экосистем на залежных полях: самовосстановление леса, сенокос, пастбище, пашня, огород и др. Установлено, что 30-32 лет после перехода агроподзола в залежь достаточно для существенной дивергенции микробного сообщества и биологических параметров (респираторная активность, процессы азотного цикла) почв. Таким образом, впервые создан микробиомный портрет агропочв Северо-Запада ЕТР и выявлена степень его реакции на отдельные факторы почвообразования в ходе постагрогенной эволюции почв.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-16-20003.



Метаболический потенциал конверсии гербицидов у бактериальных изолятов загрязненных территорий

Л.Г. Анисимова^{1}*

¹ Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АН РБ, г.Уфа, Россия

* e-mail: biotechexpert22@gmail.com

Полисубстратная бактериальная активность находит важное практическое применение в системе защиты растений для снижения гербицидной нагрузки. Ценными являются культуры, которые могут использовать эти соединения в качестве единственного источника углерода и энергии.

Гербициды имеют различный механизм действия на растения: 2,4-дихлорфеноксиуксусная (2,4-Д) кислота нарушает нормальный рост растений, бентазон (химический класс триазинов) необратимо блокирует фотосинтетический транспорт электронов, имазапир (класс имидазолинов) нарушает образования изолейцина и валина, что приводит к прекращению деления клеток и роста растений.

Цель работы – исследовать метаболическую активность новых бактериальных изолятов по отношению к гербицидам различного механизма действия.

Бактериальные культуры выделялись из загрязненных образцов почвы и сточных вод. Активность 16 бактериальных изолятов по отношению к гербицидам исследовали на жидкой минеральной среде М9 (г/л: Na_2HPO_4 – 6.0, KH_2PO_4 – 3.0, NaCl – 0.5, NH_4Cl – 1.0, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.3, CaCl_2 – 0.15), где в качестве источника углерода раздельно добавлялись 2,4-Д 1000мг/л, бентазон 250мг/л, имазапир 200мг/л. После 7-ми дневной инкубации при температуре 28°C активность культур определялась визуально по помутнению среды по сравнению с контролем (среда М9 с гербицидом без внесения суспензии бактерий). Эксперименты проводили в трех повторностях.

При использовании в качестве единственного источника 2,4-Д в высокой концентрации хороший рост продемонстрировали культуры - Pp, 22S, 5F, Grn, хуже рос штамм V.meg. Бентазон в концентрации 250 мг/л способны использовать изоляты: Df-2, R-2, Lif-1, 3Lif и, в меньшей степени - 26D. На соединении имазапир в концентрации 200мг/л росли пять штаммов Bgl-1, Lif-1, 3Lif, Fb22 и R-2. Таким образом, три штамма R-2, Lif-1, 3Lif могут использовать два субстрата из трех (бентазон и имазапир), а третий субстрат метаболизировать не могут, это может быть связано с наличием атомов хлора в его молекуле.



Биологически активные минеральные удобрения, содержащие полезные штаммы эндوفитных бактерий для повышения коэффициента их использования

М.Е. Баганова^{1}, В.К. Чеботарь¹, А.Н. Заплаткин¹, М.С. Ганчева^{1,2}, В.Н. Пищик¹,
О.В. Келейникова¹, Е.П. Чижевская¹*

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

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

* e-mail: me.baganova@arriam.ru

Важной научной задачей является поиск путей повышения использования растениями минеральных удобрений, поскольку в современном российском земледелии минеральные удобрения применяют около 2,4 млн. тонн по действующему веществу в год, или 38 кг/га посевов. При этом растения используют только часть питательных веществ, поступающих в почву с минеральными удобрениями. Коэффициент использования растениями азота составляет 30-50 %, фосфора – 20-30 %, калия– 30-40%, к тому же часть питательных веществ удобрений вымывается в грунтовые воды или переходит в недоступную для растений форму. Создание биологически активных минеральных удобрений на основе штаммов эндوفитных бактерий позволит повысить урожайность при сохранении норм внесения минеральных удобрений за счет синергетического эффекта, оказываемого элементами питания из минеральных удобрений и биологических метаболитов, оказывающих биостимулирующее, антистрессовое и другие положительные действия на растение. Разработаны технологии производства и наработаны опытные образцы биологически активных минеральных удобрений. Изучена приживаемость перспективных штаммов эндوفитных бактерий на минеральных субстратах (диатомит, экокремний) для обработки гранул минеральных удобрений. Показано, что споровые формы бактерий р. *Bacillus* хорошо сохраняются в сухих субстратах-носителях в течение 12 месяцев. По результатам трех лет показано, что биологизация гранул минеральных удобрений NPKS сухим препаратом бацилл на диатомите повышала урожай растений на 28,5%, а препаратом бацилл на экокремнии увеличивала урожай салата на 17,9 -29,0% по сравнению с небиологизированным минеральным удобрением. По результатам трех лет исследований показано, что биологизация гранул минеральных удобрений NPKS и аммофоса сухим препаратом штамма W018 *Paenibacillus xylanexedens* на диатомите повышала урожай зерна на 16,2%, а препаратом штамма W017 *Bacillus velezensis* на экокремнии увеличивала урожай зерна на 13,2% по сравнению с небиологизированным минеральным удобрением.



Скрининг природных изолятов *Yarrowia lipolytica*, перспективных продуцентов многоатомных спиртов

О.А. Бесчастных^{1*}, М.О. Таратынова¹, С.П. Синеокий¹

¹ Биоресурсный центр – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт», Москва

* e-mail: o.a.beschastnykh@yandex.ru

Такие многоатомные спирты как эритритол и маннит, являются антиоксидантами и применяются в качестве подсластителя в пищевой, фармацевтической и косметической отраслях промышленности. Дрожжи *Y. lipolytica* способны накапливать ряд полиолов в условиях осмотического шока, также они зарекомендовали себя в качестве одного из ведущих продуцентов эритритола. Цель исследования заключается в оценке уровня продукции маннита и эритритола природными изолятами *Y. lipolytica*.

Был осуществлен поиск оптимальной среды культивирования для скрининга продукции полиолов. Штамм W29 *Y. lipolytica* выращивали 168 часов на средах: 1 (100 г/л глицерина, 2.3 г/л $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1 г/л $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 1 г/л дрожжевого экстракта, 0.23 г/л K_2HPO_4 , 26.4 г/л NaCl), 2 (среда 1 без глицерина, с добавлением 90 г/л глюкозы), и 3 (минимальная среда YNB, Himedia G091 с 0.1 М калий фосфатным буфером pH 6.8 при добавлении 25 г/л NaCl и 90 г/л глюкозы). Наибольший титр полиолов показан на среде 1 на 4 сутки культивирования.

42 штамма природных изолятов *Y. lipolytica* выращивали при 30 °С в пробирках на 50 мл в 10 мл среды 1 в течении 4 суток. Благодаря проведенным изысканиям удалось обнаружить штаммы ВКПМ Y-2 и ВКПМ Y-3492, способные накапливать до 9.3 и 9.5 г/л эритритола, соответственно. На среде 1 без добавления NaCl на штаммах ВКПМ Y-4346 и ВКПМ Y-5053 был зарегистрирован титр до 22.9 и 27.7 г/л маннита, соответственно. В связи с высоким уровнем продукции, штаммы могут быть использованы в качестве стартовой платформы для создания продуцентов вышеописанных соединений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации Грант № 075-15-2019-1659.



Противовоспалительный эффект щелочной фосфатазы CmAP из морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 296 при язвенном колите у мышей

Г.А. Бондарев^{1*}, Л.В. Слепченко^{1,2}, А.В. Сейткалиева^{1,2}, Л.А. Балабанова^{1,2}

¹ Молодежная лаборатория рекомбинантных ДНК-технологий Передовой инженерной школы
«Институт биотехнологий, биоинженерии и пищевых систем»

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт
биоорганической химии им. Г.Б. Елякова Дальневосточного отделения Российской академии наук
(ТИБОХ ДВО РАН)

* e-mail: bondarevgeorgii22@gmail.com

Противовоспалительные эффекты кишечной щелочной фосфатазы и других ЩФ структурного семейства белков PhoA представляют широкий интерес в качестве потенциальных терапевтических средств для лечения ряда системных и острых воспалительных состояний благодаря их неиммуногенным свойствам. Однако, ЩФ из кишечника крупного рогатого скота и другие коммерчески доступные ЩФ, включая кишечную ЩФ человека (hALPI), обладают минимальной активностью против немодифицированных энтеральных хемотипов ЛПС даже после длительной 96-часовой инкубации. Кроме того, производство рекомбинантных ЩФ человека или животных затруднено из-за их функциональной зависимости от посттрансляционного гликозилирования.

Целью данного исследования является оценка терапевтического потенциала высокоактивной щелочной фосфатазы PhoA из морской бактерии *Cobetia amphilecti* КММ 296 (CmAP), биологическая функция которой в природе до сих пор не ясна, в фармакотерапии патологий кишечника. В качестве экспериментальной модели патологии были использованы мыши с декстрансульфат-индуцированным язвенным колитом.

В группе животных, получавших инкапсулированный в альгинат фермент CmAP-Alg, наблюдалось статистически значимое снижение концентрации провоспалительных цитокинов IL-1 и IL-6 в гомогенате ткани толстой кишки и сыворотке крови, что указывает на уменьшение системного воспаления. Влияния на концентрацию TNF-α выявлено не было.

Вероятно, эндотоксины ЛПС грамотрицательной микрофлоры, обитающей в организме мышей, являются применимыми субстратами для морской бактериальной щелочной фосфатазы CmAP, обеспечивающей бактерию *C. amphilecti* КММ 296 неорганическим фосфатом. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности перорального применения бактериальной рекомбинантной щелочной фосфатазы CmAP для лечения состояний, связанных с кишечной гиперпроницаемостью.

Работа была выполнена по гранту Министерства науки и высшего образования FZNS-2022-0015.



Генетические особенности хозяйственно-ценного вида дрожжей *Saccharomyces bayanus*

А.Н. Боровкова^{1*}, Е.С. Наумова¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» ЦГИ «Курчатовский геномный центр» Курчатовского комплекса НБИКС-ПТ,
1-й Дорожный проезд, д. 1, Москва, Россия

* e-mail: al.borovkova_93@mail.ru

Культурный генофонд дрожжей *Saccharomyces* представлен видами *S. cerevisiae* и *S. bayanus*. Дрожжи *S. bayanus* ассоциированы с виноделием и являются одним из родительских геномов гибридных пивных дрожжей *S. pastorianus* (*S. cerevisiae* × *S. bayanus*). Целью исследования было изучение внутривидового полиморфизма дрожжей *S. bayanus* и выявление штаммов, обладающих пектинолитической активностью.

Изучено генетическое родство 45 штаммов *S. bayanus*, выделенных из ферментационных процессов и природных источников в разных регионах мира. Филогенетический анализ ядерных (*FSY1*, *HIS3*, *MET2*) и митохондриальных генов (*FUN14*, *COX2*) выявил значительный внутривидовой полиморфизм дрожжей *S. bayanus*. Установлено, что вид *S. bayanus* включает пять генетических популяций: *S. bayanus* var. *bayanus* (пивоварение), *S. bayanus* var. *ivarum* (виноделие), природные популяции *S. eubayanus*, западнокитайская и новозеландская. Последние две популяции наиболее дивергентны и образуют полустерильные гибриды между собой и с остальными популяциями: 0–24.2% и 6.2–23.3%. Согласно гибридологическому анализу, европейская популяция *S. bayanus* var. *bayanus* является связующим звеном между *S. eubayanus* и *S. bayanus* var. *ivarum*.

Содержащиеся в ягодах винограда пектиновые вещества затрудняют процесс фильтрации виноградного сусла. Наличие пектинолитической активности у винных штаммов улучшает процесс осветления сусла и существенно влияет на формирование органолептических показателей вина. Все изученные штаммы *S. bayanus* были способны, в той или иной степени, секретировать активную эндо-полигалактуроназу. Независимо от источника и места выделения штаммы *S. bayanus* обладали тремя пектиназными генами *PGU*: *PGU1b*, *PGU2b* и *PGU3b*. Отобраны пять штаммов *S. bayanus* с наибольшей пектинолитической активностью, которые представляют интерес для дальнейших молекулярно-генетических исследований и селекционных работ с винными дрожжами.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Секвенирование и сравнительный анализ генома бактерии *Lacinutrix* sp. КММ 9891, выделенной из донных осадков Охотского моря

Е.П. Быстрицкая¹*, Л.А. Романенко¹, В.И. Еремеев¹, С.Н. Балдаев¹, М.П. Исаева¹

¹ Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток,
Россия

* e-mail: ep.bystritskaya@yandex.ru

Новый бактериальный штамм, депонированный в Коллекцию морских микроорганизмов (КММ) ТИБОХ ДВО РАН под номером КММ 9891, был выделен из образца донных осадков, отобранного в 59-м рейсе НИС «Академик Опарин» в 2020 г. в Охотском море, Россия, на глубине 41,5 метров.

Штамм КММ 9891 представляет собой аэробные грамотрицательные галофильные палочковидные неподвижные бактерии, образующие желто-пигментированные колонии на Морском агаре 2216. Температурный интервал роста определен между 5 и 30 °С. Бактерии КММ 9891 растут при содержании в среде 0,5-4% NaCl, не гидролизуют желатин, казеин, тирозин, агар, не редуцируют нитраты в нитриты. Филогенетический анализ нового штамма, основанный на секвенировании 16S рРНК гена, показал 98,73% сходства его последовательности с типовым штаммом *Lacinutrix himadriensis* KCTC 23612T.

Штамм *Lacinutrix* sp. КММ 9891 был секвенирован на платформах MiSeq (Illumina) и MinION (Oxford Nanopore Technologies). Гибридная сборка длинных и коротких прочтений была осуществлена с помощью Unicycler. Геном КММ 9891 был собран в 17 контигов с N50 2560412 п.н., размер генома был оценен в 3993635 п.н. (полнота 99,68%, контаминация 0,32%), ГЦ-состав – 32,7%. Наибольшее число генов, предсказанных сервером RAST, было включено в подсистему «аминокислоты и производные» (242). Анализ генома сервером dbCAN3 выявил избыток генов гликозилтрансфераз (62). Согласно филогеномному анализу штамм КММ 9891 наиболее близок к типовому штамму *L. himadriensis* E4-9aT, показатели ANI, AAI и dDDH между ними составили 94,5%, 95,3% и 62,8%, соответственно, что ниже пороговых значений для разделения видов.

Полученные результаты филогеномного анализа и физиолого-биохимические характеристики показывают, что штамм бактерий КММ 9891 представляет, вероятно, новый вид рода *Lacinutrix*.

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



Биохимическая характеристика новых штаммов *Bacillus* spp., перспективных для включения в биопрепарат для животноводства

Д.Е. Дудник¹*

¹ ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет»

* e-mail: dudnik-dina@mail.ru

Одним из приоритетов научно-технологического развития России является переход к экологически чистому сельскому хозяйству с использованием биологических средств для защиты животных. В качестве таких средств могут рассматриваться биологические препараты на основе бактерий для обработки сельскохозяйственных помещений и подстилки. Биопрепараты способны улучшать санитарно-гигиеническое состояние животноводческих предприятий путем сокращения и вытеснения патогенных микроорганизмов на обрабатываемых поверхностях. Для разработки биопрепарата необходимо подобрать штаммы бактерий, обладающие не только антагонистической активностью в отношении болезнетворных микроорганизмов, но и способностью к синтезу ферментов для ускорения деградации органических отходов.

Спорообразующие бактерии *Bacillus* рассматриваются как перспективная группа микроорганизмов для разработки биологических препаратов. Бациллы продуцируют антимикробные соединения, активные в отношении бактериальных и грибных патогенов. Помимо этого, штаммы *Bacillus* spp. характеризуются широким спектром ферментов, положительно сказывающихся на эффективности биологических препаратов.

В данной работе была изучена продукция биосурфактантов и активность внеклеточных амилолитических, целлюлозолитических, протеолитических и липолитических ферментов штаммов *Bacillus* spp. из коллекции ИЦ «Промбиотех». В результате исследования отобраны штаммы способные к синтезу широкого спектра ферментов и биоПАВ как перспективная основа биологического препарата для обработки подстилки и животноводческих помещений.



Перспективы применения эндофитного штамма *Bacillus amyloliquefaciens* P20 для повышения продуктивности картофеля и его защиты от ризоктониоза

А.Н. Заплаткин^{1*}, В.К. Чеботарь¹, О.В. Келейникова¹, М.Е. Баганова¹, А.М. Лазарев²,
А.В. Хютти², А.А. Быстрицкий³

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

² ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений,
⁵ Санкт-Петербург, Россия

³ Общество с ограниченной ответственностью «АгроИнтер», Ленинградская область, Россия
* e-mail: an.zaplatkin@arriam.ru

Изучение микробиома картофеля (*Solanum tuberosum* L.), позволяет сформировать представление о биоразнообразии микроорганизмов, которое часто зависит от сорта и фазы развития растения. Почвенный и растительный микробиом – непосредственный источник формирования эндофитной микрофлоры, которая определяет питание растений, их устойчивость к патогенам и абиотическим стрессам. С целью создания микробиологического препарата для борьбы с болезнями картофеля, из клубней картофеля с. Сударыня выделен и отобран штамм эндофитных бактерий *B. amyloliquefaciens* P20, способный ингибировать рост фитопатогенных грибов *Rhizoctonia solani*, а также фитопатогенных бактерий *Pectobacterium atrosepticum*, *Clavibacter michiganensis*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* в лабораторных опытах.

В производственных, модельных и вегетационных опытах показана эффективность биофунгицида на основе штамма *B. amyloliquefaciens* P20. Прибавка к химическому стандарту составила 2,6 т/га. Лучшая биологическая эффективность по контролю ризоктониоза отмечена на варианте с применением биофунгицида Ризофайт на основе штамма P20, а также при его совмещении с химическим протравителем – 40,9 - 45,1 % соответственно. В модельных опытах в условиях искусственного инфекционного фона биологическая эффективность биофунгицида Ризофайт на основе штамма *B. amyloliquefaciens* P20 против ризоктониоза ростков и стеблей составляла 39,8-73,5% по сравнению с 10,2-44,2% в варианте с химическим протравителем. В вегетационных опытах показано, что применение штамма *B. amyloliquefaciens* P20 достоверно увеличило урожай клубней картофеля на 22%.

Полученные данные могут быть использованы для разработки экологически безопасных технологий выращивания картофеля и формирования устойчивых систем земледелия и растениеводства.

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.



Биотехнологический потенциал бактерий рода *Bacillus* sp., выделенных из ризосферы растений

А.Н. Иркитова^{1*}

¹ ФГБОУ ВО Алтайский государственный университет, Барнаул, Россия

* e-mail: Elen171987@mail.ru

При разработке биологических препаратов для сельского хозяйства (растениеводство, животноводство, производство аквакультуры и пр.) часто используют ризосферные бактерии, обладающие высокой биологической активностью и антагонистическим эффектом по отношению к различным патогенам. Эти микроорганизмы принято называть PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). К ним относятся представители родов *Azotobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas* и др. Особый интерес в практической биотехнологии представляют бациллы из-за своей безопасности, неприхотливости при культивировании, высокой устойчивости к неблагоприятным факторам среды, в том числе при производстве биопрепаратов на их основе.

Цель настоящего исследования: изучить биотехнологические свойства штаммов *Bacillus* sp., выделенных из ризосферы растений, произрастающих на территории Алтайского края.

В ходе работы было отобрано 150 образцов ризосферы, из них выделено и охарактеризовано 20 новых штаммов бацилл. На основе некоторых штаммов разработаны биологические препараты для сельского хозяйства.



Микробиологический препарат на основе эндофита *Bacillus amyloliquifaciens* V417 для защиты сельскохозяйственных культур от болезней

О.В.Келейникова^{1*}, В.К. Чеботарь¹, М.Е. Баганова¹, А.Н. Заплаткин¹,
В.Н. Пищик¹, Е.П. Чижевская¹

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

* e-mail: ov.keleinikova@arriam.ru

Для создания нового микробиологического препарата на основе эндофитных бактерий, который мог бы использоваться для стимуляции развития растений и их защиты от болезней, необходимо определить как целевые сельскохозяйственные виды растений, так и функциональные возможности создаваемого препарата. Биоразнообразие бактериальных эндофитов и растений-хозяев позволяет получить эндофитные бактерии с заданными свойствами, которые можно определить на основании изучения их хозяйственно-ценных свойств. Использование комбинаций эндофитов с коммерческими пестицидами, применяемыми для защиты растений, может привести к синергическому эффекту на фитопатогены. В то время как химические пестициды способны оказывать кратковременное ингибирующее действие на фитопатогенные микроорганизмы, биологические агенты способны оказывать негативное воздействие на фитопатогены в течение всего вегетационного сезона. Штамм V417 *Bacillus amyloliquifaciens* выделен из внутренних тканей черенков винограда (*Vitis vinifera*) с. Мускат, обладает выраженной фунгицидной активностью против спектра фитопатогенных грибов р. *Fusarium*, *Alternaria*, *Phytium*; бактерицидной активностью против фитопатогенных бактерий *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *Pseudomonas syringae* и ростстимулирующим эффектом по отношению к различным сельскохозяйственным культурам (яровая пшеница, кукуруза, сахарная свекла, картофель). Применение микробиологического препарата на основе штамма V417 *Bacillus amyloliquifaciens* в полевых производственных опытах в Воронежской области увеличило урожай клубней картофеля сортов Гала и Беллароза на 9,3-43,1% по сравнению с контролем, на 0,65-1,58% увеличило содержание крахмала в клубнях и на 11,9-12,5% снизило содержание нитратов в клубнях. Созданный препарат представляет практический интерес для сельхозтоваропроизводителей для получения высококачественной продукции растениеводства.



Исследование разнообразия бактериофагов лактококков на молокоперерабатывающих предприятиях Республики Беларусь

Е.С. Климович^{1*}, Е.Н. Бирюк¹, Н.Н. Фурик¹

¹ Научно-производственное республиканское дочернее унитарное предприятие «Институт мясо-молочной промышленности» Республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию», г. Минск, Республика Беларусь

* e-mail: klimovich_es@mail.ru

Все известные в настоящее время лактофаги принадлежат к классу Caudoviricetes. Лактококковые фаги классифицируются на основе их морфологии и нуклеотидной гомологии на 10 таксономических групп. Среди описанных групп лактофагов, на молокоперерабатывающих предприятиях наиболее часто встречаются три группы: P335, *Skunavirus* (прежнее название 936) и *Ceduovirus* (прежнее название C2). Представители групп *Skunavirus* и *Ceduovirus* являются вирулентными фагами, в то время как представители группы P335 могут быть вирулентными или умеренными [1].

В ходе работы были отобраны и исследованы с помощью молекулярно-генетических методов 190 образцов сырого молока, технологических сред и молочной продукции с разных предприятий Республики Беларусь. Мультиплексную ПЦР-детекцию лактофагов проводили с использованием 3 наборов праймеров описанных в работе S. Labrie [2].

В 120 образцах были найдены фрагменты ДНК лактофагов принадлежащие к разным группам. В 21% образцов обнаружены фрагменты ДНК P335 группы, в 3% образцов – фрагменты ДНК характерные для *Ceduovirus*, в 32% – фрагменты ДНК *Skunavirus*. Также были обнаружены фаговые ассоциации различного состава: P335 и *Skunavirus* – в 9% образцов, P335 и *Ceduovirus* – 7%, *Ceduovirus* и *Skunavirus* – 24%, P335, *Ceduovirus* и *Skunavirus* – 4%. Полученные в результате анализа данные свидетельствуют о преобладании лактофагов относящихся к *Skunavirus* (обнаружены в 69% исследуемых образцов).

1. Bacteriophage-host interactions as a platform to establish the role of phages in modulating the microbial composition of fermented foods / K. White [и др.] // MRR. – 2022.

2. Labrie, S. Multiplex PCR for Detection and Identification of Lactococcal Bacteriophages / S. Labrie, S. Moineau // Appl Environ Microbiol. – 2000. – Vol. 66, № 3. – P. 987-994.



Тест-система на основе последовательности гена *nodX* для оценки конкурентоспособности штамма *TOM Rhizobium leguminosarum* в полевых условиях

М.С. Клюкова^{1*}, Е.А. Алексеева², В.А. Ракова², А.И. Жернаков¹, А.С. Сулима¹, И.А. Тихонович^{1,2,3},
В.А. Жуков^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Университет «Сириус», Сириус, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: m.kliukova@arriam.ru

Клубеньковые бактерии (ризобии) вступают в симбиоз с бобовыми растениями, в результате чего на корнях растения формируются специализированные симбиотические структуры - клубеньки, в которых происходит азотфиксация. У *P. sativum* ген *Sym2* контролирует специфичность взаимодействия с ризобиями: растения с европейской аллелью (*Sym2E*) могут взаимодействовать с широким спектром ризобияльных штаммов, в то время как растения с афганской аллелью (*Sym2A*) - только с теми, в геноме которых присутствует ген *nodX*.

Для изучения конкурентоспособности штамма *TOM (nodX+)* в полевом эксперименте были собраны клубеньки с растений европейского сорта *Rondo* и полученной на его основе интрогрессионной линии *A33.18 (Sym2A)* в вариантах «инокуляция штаммом *TOM*» и «контроль без инокуляции» в трех повторностях. Из каждого клубенька была выделена ДНК и поставлена ПЦР с праймерами к целевому гену *nodX*, а также к гену *nodE* в качестве положительного контроля. В случае успешной амплификации фрагмента гена *nodX* проводился рестрикционный анализ для подтверждения его принадлежности штамму *TOM* или каким-либо аборигенным штаммам с другим аллельным состоянием *nodX*.

Было показано, что в контроле линия *A33.18* образует клубеньки с *nodX+* ризобиями в 97% случаев. При этом штамм *TOM* не был идентифицирован ни в одном из образцов. Для 41 клубенька в варианте с обработкой были выделены следующие группы: клубеньки образованы штаммом *TOM* - 36,6%, штаммом *TOM* совместно с *nodX+* ризобией - 53,7%, *nodX+* ризобией - 7,3%, *nodX-* ризобией - 2,4%. Все клубеньки сорта *Rondo* в варианте с инокуляцией были образованы *nodX-* ризобиями, что указывает на низкую конкурентоспособность штамма *TOM* в полевых условиях. В контрольном варианте у *Rondo* был идентифицирован один образец с незначительным уровнем амплификации фрагмента гена *nodX*, принадлежащего штамму *TOM*, остальные клубеньки также не содержали штаммов *nodX+*. В настоящее время ведется работа по анализу материала третьей повторности.

Работа поддержана грантом РНФ 22-16-00109.



Изучение ростостимулирующей и фунгицидной активности бактериальных штаммов аборигенной микрофлоры почв Самарканда

Ю.В. Лактионов¹, А.И. Ковальчук^{1*}, З.Ф. Исмоилов², Ш.У. Аханбаев²

- ¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия
² Самаркандский государственный университет имени Шарофа Рашидова, Самарканд, Узбекистан
* e-mail: k.nastya4321@gmail.com

Существует необходимость выделения и изучения новых штаммов микроорганизмов с хозяйственно-ценными свойствами и разработки новых биопрепаратов эффективных в различных почвенно-климатических условиях.

В работе оценены фунгицидная и ростостимулирующая активность штаммов *Pseudomonas putida*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus pumilus*, *Pseudomonas endophytica*, *Bacillus aryabhatai*, выделенных из почв Узбекистана (в окрестности Самарканда).

Оценку фунгицидных свойств проводили луночным методом, в качестве тест-культур использовали штаммы грибов *Fusarium culmorum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*. На поверхность агаризованной среды газоном высевали суспензию спор грибов, проделывали отверстия диаметром 6 мм, в которые вносили 50 мкл бактериальной суспензии с титром 10⁷ КОЕ/мл. Фунгицидную активность оценивали по диаметру зоны подавления роста фитопатогена.

Оценку ростостимулирующей активности штаммов проводили в биотесте с семенами сои сортов ЭН Аргента и Аляска, при этом определяли всхожесть и длину корня. Семена стерилизовали, отмывали водой, помещали на слой влажной фильтровальной бумаги в чашки Петри и инокулировали бактериальной суспензией с титром 10⁷ КОЕ/мл в расчете 10 мл/кг семян.

Таким образом, были охарактеризованы фунгицидная и ростостимулирующая активность ряда штаммов, что позволило оценить их потенциал в качестве антифунгальных и ростостимулирующих агентов.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



Исследование микроорганизмов, выделенных из донных отложений Обской губы

В.А. Леонов^{1*}, Л.Э. Беллендир²

¹ Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), кафедра технологии микробиологического синтеза, Санкт-Петербург, Россия

² АО «ВНИИГ им. Б.Е. Веденеева», лаборатория №364 «Долговечность бетонных и железобетонных сооружений и их конструктивных материалов», Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: leonovlad_24@mail.ru

В современном мире остается актуальна проблема биокоррозии различных материалов за счет жизнедеятельности микроорганизмов. Исследование микрофлоры донных отложений Обской губы позволяет оценить потенциал влияния микроорганизмов на долговечность бетонных и железобетонных морских сооружений.

Культуры микроорганизмов были получены со дна Обской губы на глубине 6 метров ниже дна. Климат Обской губы крайне суров, среднемесячная температура воды за месяцы безледного периода 2-5 °С, соленость воды на глубине 3-4 метров 5-10%. Культуры были рассеяны на ГМФ среду (г/л: порошок ГМФ – 30, агар-агар – 15, вода дист. – до 1 л). Из первоначального образца грунта было выделено 5 видов бактериальных культур. Метагеномный анализ показал наличие 5 родов микроорганизмов (*Dietzia* sp., *Planococcus* sp., *Shewanella* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp.). Для изучения морфологических и физиолого-биохимических свойств выделенных культур проводили микропирование и серию экспериментов по определению отношения к молекулярному кислороду, температуре, NaCl, pH среды. Результаты экспериментов представлены ниже.

По строению клеточной стенки к Грамположительным бактериям отнесены *Dietzia* sp., *Planococcus* sp., *Bacillus* sp., к Грамотрицательным бактериям отнесена *Shewanella* sp. По форме клетки: *Dietzia* sp. – диплококки, *Planococcus* sp. – кокки, *Bacillus* sp. и *Shewanella* sp. – палочки. По отношению к молекулярному кислороду все культуры факультативные анаэробы. По отношению к температуре: *Dietzia* sp. – Мезофил, *Bacillus* sp. – термотолерантная бактерия, *Planococcus* sp. и *Shewanella* sp. – факультативные психрофилы. По отношению к NaCl: *Bacillus* sp. – галотолерантная бактерия, *Dietzia* sp., *Planococcus* sp., *Shewanella* sp. – морская бактерия. По отношению к pH среды: *Dietzia* sp. – нейтрофил, *Planococcus* sp., *Bacillus* sp., *Shewanella* sp. – факультативный алкалофил.

В дальнейшем эти культуры будут депонированы с целью рекомендаций в качестве тест-культур при выявлении коррозионно-активных микроорганизмов.



Отбор генотипов томата по эффективности взаимодействия с почвенной микрофлорой

Н.А. Некрашевич¹*, А.В. Кильчевский¹

¹ Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь

* e-mail: N.Nekrashevich@igc.by

Ухудшение экологической обстановки и растущая потребность в продовольствии определяют необходимость развития новой стратегии эффективного землепользования. Действенным приемом является применение микробиологических препаратов, позволяющих получать дополнительную продукцию сельскохозяйственных культур при снижении минерально-пестицидной нагрузки на окружающую среду. Изучение генетического разнообразия растений и микроорганизмов, оценка их потенциала для формирования устойчивых растительно-микробных систем являются приоритетными научными задачами настоящего времени.

Цель исследования – изучение реакции томата на взаимодействие с ризосферными бактериями для создания устойчивых комплементарных пар.

Проведена оценка отзывчивости 20 коллекционных образцов томата на бактеризацию 10 штаммами в условиях лаборатории, остекленных теплиц и открытого грунта. Выявлено, что эффективность взаимодействия зависит от генотипов растительно-микробных пар и связана со стадией онтогенеза растений.

Выделен перспективный штамм *Burkholderia* sp. 418, обладающий способностью к конкурентному заселению корней, низкотемпературной фиксации азота, синтезу индольных соединений и фермента АЦК-дезаминазы.

Проведена дифференциация генотипов томата по реакции на бактеризацию: образцы Зорка, Линия 164 с достоверным увеличением значений признаков с начальных этапов онтогенеза и некоторым снижением к концу вегетации; образцы Линия 7, Калинка с отрицательной или нейтральной реакцией на начальных этапах онтогенеза и возрастающей отзывчивостью.

Выявленные образцы томата с достоверно различной реакцией на бактеризацию будут использоваться для дальнейшей работы по изучению молекулярно-генетических путей формирования растительно-микробных взаимодействий ризосферы. Лучшие гибриды томата F1 Потенциал, Компромисс и Надзея, сочетающие высокую урожайность в открытом грунте и отзывчивость на бактеризацию, рекомендованы для использования в адаптивном сельском хозяйстве с применением микробиологических препаратов.



Микробиом мерзлотных почв и грунтов Арктики

Т.И. Низамутдинов¹, С.Ю. Евграфова², С. Янг³

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Институт леса ФИЦ КНЦ СО РАН

³ Northwest Institute of Eco-Environment and Resources (NIEER), Chinese Academy of Sciences (CAS)

Площадь, занятая мерзлотой в России превышает 54 %. Мерзлота подходит близко к поверхности высоких широтах, где непосредственно влияет на почвообразование. В более южных регионах криолитозоны верхний слой мерзлоты опускается на 2 метра и глубже и влияет на биологические свойства почв опосредованно. Тем не менее, мерзлотные почвы России представляют уникальный резервуар микроорганизмов, высвобождение которых из мерзлотных слоев может привести к самым непредсказуемым биогеохимическим и санитарно-гигиеническим последствиям. Особый интерес представляют незамерзающие слои засоленного грунта – криопеги, микробное разнообразие которых крайне специфично. В Восточной Сибири широко распространены едомы – грунты с высоким содержанием органического вещества, которое является крайне подверженным микробиологической минерализации. Экологические ниши мерзлотных почв могут быть резко дифференцированы по температурным условиям, но эта стратификация часто прерывается процессами криотурбаций. Нами проведен анализ таксономического и функционального разнообразия микробиома криогенных почв и грунтов арктических экосистем. Установлено, что представители филумов Proteobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Acidobacteria, Actinobacteria и Bacteroidetes являются наиболее универсальными обитателями мерзлотных почв. Для слоев многолетнемерзлых горных пород характерны представители Firmicutes и Actinobacteria, а также Bacteroidetes и Proteobacteria. Антропогенные нарушения почв приводят к увеличению доли Chloroflexi и Cyanobacteria. В агрокриогенных почвах существенную роль играют представители Bacteroidetes и Planctomycetota. В северной тайге в мерзлотных почвах существенную роль начинают играть Actinobacteria.

Эти данные не являются генерализованными, так как основаны на точечных исследованиях в географически удаленных друг от друга экосистемах. Остро стоит вопрос о создании базы данных о составе микробиома почв Российской Арктики.

Работа выполнена при поддержке РФФ № 24-44-00006.



Анализ влияния стрессовых факторов на дифференцировку бактериоидов в клубеньках *Glycine max* и *G. soja*

В.С. Перцев¹*, А.Б. Кутаева², В.Е. Цыганов²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

* e-mail: st075899@student.spbu.ru

Соя культурная (*G. max*) является одной из самых значимых сельскохозяйственных культур в мире. В свою очередь соя уссурийская (*G. soja*) рассматривается как перспективная культура. Оба вида сои способны вступать в симбиотические отношения с различными видами ризобий с образованием детерминированных клубеньков. Известно, что бактериоиды в детерминированных клубеньках остаются малодифференцированными и сохраняют способность к размножению. Однако, как показало недавнее исследование, в клубеньках *G. max* и *G. soja* бактериоиды могут значительно различаться по размеру.

В ходе текущего исследования было выявлено, что при выращивании растений обоих видов сои, инокулированных штаммами *Bradyrhizobium liaoningense* 04656, *Bradyrhizobium japonicum* 2490, *Sinorhizobium fredii* 04654, в условиях пониженной температуры (21 °С) наблюдается ярко выраженная дифференцировка отдельных бактериоидов. Такие бактериоиды приобретали характерную плеоморфную форму, а также значительно увеличивались в размерах, превышая в несколько раз размер свободноживущих ризобий. В то же время при оптимальной температуре (28 °С) вариация в размерах бактериоидов была выражена слабее. При этом, нитрогеназная активность была выше в клубеньках растений, выращенных при пониженной температуре. Гистологическая организация клубеньков различалась у растений обоих видов сои, выращенных при различных температурах, а также инокулированных различными штаммами ризобий. При выращивании растений в условиях засухи и засоления не выявлено изменений в вариации длины бактериоидов.

Дальнейшие исследования должны способствовать выявлению факторов *G. max* и *G. soja*, которые способствуют выраженной дифференцировке бактериоидов.

Работа выполнена в рамках государственного задания FGEW-2021-0003.



Идентификация пигментирующих бактерий из вторичного сырья сельского хозяйства

А.О. Причена¹*, Н.Ю. Шарова¹

¹ Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Пищевых Добавок - филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

* e-mail: prichepa.a@yandex.ru

Пигменты природного происхождения привлекают внимание тем, что обладают рядом полезных свойств. Например, к таким свойствам можно отнести: антиокислительные, противовоспалительные и противомикробные. Стоит отметить, что природные красители обладают также свойствами снижать вероятность онкологии и болезней сердечно-сосудистой системы.

Одним из способов получения пигментов является экстракция из растительного сырья, которая имеет ряд недостатков, которые компенсируются при микробиологическом синтезе. Во-первых, данный синтез с помощью микроорганизмов быстрее, ведь цикл занимает не более нескольких суток. Во-вторых, площадь производства ощутимо меньше по сравнению с сельскохозяйственными полями.

Целью нашего исследования было найти и идентифицировать бактерий, способных производить красящие вещества при росте на дешевых субстратах, таких как жмыхи разных культур и пшеничные отруби.

После культивирования нативной микрофлоры и идентификации её методом 16S были обнаружены бактерии относящаяся к родам: *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Serratia* и др.

Работа выполнена по теме Государственного задания Исследовать биотехнологический потенциал микроорганизмов, выделенных из микробных сообществ побочного сельскохозяйственного, пищевого и природного сырья в процессах его переработки и синтеза в целях создания ингредиентов функционального назначения, продуктов "зеленого бренда" и снижения экологической нагрузки и повышения устойчивости экосистем (№FGUS-2022-0003).



Разработка метода оценки эффективности протекторных соединений для повышения устойчивости дрожжей к обезвоживанию

Е.А. Провоторова^{1,2}, А.А. Колосова¹, Д.Ю. Федосов¹*

¹ Курчатовский геномный центр Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва, Россия

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

* e-mail: ekaterina.provt@gmail.com

Устойчивость к обезвоживанию является одним из главных технологических признаков штаммов, предназначенных для производства активных сухих дрожжей, используемых в винной, пивоваренной и хлебобулочной промышленности. Устойчивость к обезвоживанию обусловлена генетическими особенностями штаммов, способностью синтезировать осмотически активные вещества и ферменты антиоксидантной защиты. Для повышения устойчивости дрожжей к обезвоживанию применяют протекторные соединения, которые подбирают под каждый конкретный штамм. Известные лабораторные методы тестирования устойчивости к обезвоживанию дрожжей и эффективности протекторных соединений не согласованы, отличаются по некоторым параметрам - составом питательных сред, длительностью культивирования при получении биомассы, длительностью выдерживания с протекторными соединениями.

В данной работе представлены результаты исследований подбора оптимальных условий для разработанного метода на примере двух винных штаммов *Saccharomyces cerevisiae*. Было показано, что при росте на среде Ридер жизнеспособность увеличивается от 0% до 28% по сравнению с ростом на среде YPD. Оптимальную длительность выдержки на протекторных соединениях исследовали на примере смеси 10% трегалозы и 5% сухого молока. Культуры выдерживали с протекторами до обезвоживания в течение 2 часов, 4 часов, 6 часов, а также подвергали процессу обезвоживания сразу после добавления протектора. Оба штамма показали увеличение выживаемости до 53-56% при обезвоживании сразу после добавления протектора.

В результате работы было показано, что, сочетая культуральные условия, которые используются для получения биомассы дрожжей и протекторные соединения, с которыми штамм подвергается обезвоживанию, можно значительно повысить устойчивость дрожжей к обезвоживанию. Также показано, что длительное выдерживание культуры с протектором до процесса обезвоживания не увеличивает жизнеспособность клеток.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Биоразнообразие и свойства лактобацилл, выделенных из организма пчел и пчелопродуктов

Н.С. Романович^{1*}, Е.Н. Бирюк¹, Т.А. Савельева¹, Н.К. Жабанос¹

¹ Производственное республиканское дочернее унитарное предприятие "Институт мясо-молочной промышленности" республиканского унитарного предприятия "Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию", г. Минск, Республика Беларусь

* e-mail: Romanovich28@tut.by

В настоящее время в пчеловодстве актуальным является использование пробиотических микроорганизмов, способных оказывать благотворное влияние на повышение устойчивости пчел к различным патогенам. Изучены свойства 11 штаммов, выделенных из организма пчел и пчелопродуктов. С помощью молекулярно-генетических методов (секвенирование последовательности гена 16S рРНК) установлено, что штаммы относятся к видам *Lactobacillus paracasei*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. kunkeei*, *Lb. kimbladii*, *Lb. mellis*, *Lb. apis*, *Lb. helsingborgensis*. Установлено, что культуры обладают антагонистической активностью по отношению к *E. coli* и *Candida albicans*, при этом максимальный антагонизм зафиксирован для штаммов *Lb. kunkeei*. Температурный оптимум развития изученных штаммов от 30±1°C до 37±1°C, также культуры растут в диапазоне от 5,0 до 9,0 ед. рН. Изучена ферментация углеводов штаммами с помощью стрип-тестов API 50 CH. Установлено, что замена глюкозы на фруктозу в питательной среде оказывает стимулирующий эффект на развитие клеток *Lb. kunkeei*. Осуществлена оценка биотехнологического потенциала штаммов, определен состав промышленных питательных сред, обеспечивающих оптимальное развитие выделенных культур.

Полученные результаты наших исследований по изучению антагонизма штаммов *Lb. kunkeei* к культурам *E. coli* и *Candida albicans*, а также пробиотический потенциал бактерий *Lb. kunkeei*, показанный другими исследователями [1, 2], позволяют отнести их к перспективным пробиотикам с широким спектром применения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Vergalito F. Potential application of *Apilactobacillus kunkeei* for human use: evaluation of probiotic and functional properties / F. Vergalito [et al.] // Foods. – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 1535.
2. Bisson L.F. The two faces of *Lactobacillus kunkeei*: wine spoilage agent and bee probiotic / L.F. Bisson [et al.] // Catalyst: Discovery into Practice. – 2017. – Vol. 1, № 1. – P. 1-11.



Полный геном высокоинсектицидного штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* 800/15

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

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Пушкин, Россия

² Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург, Россия
* e-mail: iu.savina@arriam.ru

Штамм *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* 800/15 был запатентован (патент РФ №2514211) в качестве основного компонента биопрепарата с высокой инсектицидной активностью и выраженными фунгицидными и ростостимулирующими свойствами. Однако до сих пор геном штамма не был секвенирован, и молекулярные факторы, влияющие на его полифункциональные свойства, оставались неизвестны.

В текущей работе мы представляем первый черновой вариант генома штамма 800/15 в сочетании со сравнительным геномным анализом его ближайших референтных штаммов.

По итогам секвенирования генома штамма 800/15 с использованием технологии Illumina была определена его последовательность суммарной длиной 6.524.663 п.н., уровень контаминации составил менее 1%. По результатам аннотации генома было выявлено 6.771 кодирующих последовательностей, 3 из которых представляли локусы, кодирующие инсектицидные токсины Spp1Aa1, Cry1Ab9 и Cry1Ba8 активные против широкого спектра отрядов насекомых, включая Lepidoptera, Blattodea, Hemiptera, Diptera и Coleoptera. Также были выявлены биосинтетические кластеры генов, ответственных за синтез вторичных метаболитов, включая фенгицин, бациллибактин и петробактин, известных своими антибактериальными, фунгицидными и ростостимулирующими свойствами. Согласно сравнительному анализу геномов ближайших изолятов, штамм 800/15 не обогащен генами, связанными с биологической активностью. Результаты анализа позволяют предположить, что проявление важных для сельского хозяйства свойств в большей степени зависит от состава локусов и оптимального сочетания детерминант вирулентности, а не от их количества.

Таким образом, полученная последовательность генома штамма 800/15 вместе с экспериментальными данными о спектре его сельскохозяйственной активности может облегчить предсказание свойств новых бактериальных изолятов на основе геномных данных.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г.

Shikov, A.E.; Savina, I.A.; Romanenko, M.N.; Nizhnikov, A.A.; Antonets, K.S. Draft Genome Sequencing of the *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* Highly Insecticidal Strain 800/15. Data 2024, 9, 34.
<https://doi.org/10.3390/data9020034>



Биоинженерный подход к разработке бактериоцинов

А.М. Сенина^{1,2*}, О. Дьяченко^{2,3}, А.Н. Некрасов⁴, М.В. Александрова², А.В. Гарковенко^{2,5,6},
Т.В. Григорьева¹, В.В. Радченко^{2,5}

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия

² ООО «Бактериоцин», г. Краснодар, Россия

³ ООО «Генетическая Экспертиза», г. Москва, Россия

⁴ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, г. Москва, Россия

⁵ ООО «ДНК Экспертиза», г. Краснодар, Россия

⁶ АНО «БИМИ», г. Краснодар, Россия

* e-mail: Anastasiahm@list.ru

Бактериоцины — специфические белки, вырабатываемые некоторыми бактериями и подавляющие жизнедеятельность клеток других штаммов того же вида или филогенетически родственных видов бактерий. Бактериоцины являются перспективной и безопасной альтернативой применению антибиотиков в сельском хозяйстве и перерабатывающей промышленности. В нашем исследовании из аннотированного множества природных бактериоцинов были отобраны несколько перспективных представителей с оптимальными физико-химическими свойствами для создания вырожденных библиотек с использованием базы данных BASTIBASE. Помимо подходящих физико-химических свойств, выбранные бактериоцины должны были подавлять рост целевых патогенных штаммов родов *Staphylococcus* и *Streptococcus*. Из нескольких сотен кандидатов, содержащихся в базе данных, нами были отобраны ауреоцин A53, латероспорулин и курвацин А. Поиск сайтов для введения вариабельных последовательностей аминокислот осуществлялся при помощи статистического анализа встречаемости аминокислот определённого типа в наборе родственных бактериоцинов и написанной нами программы на языке программирования Python, которая осуществляла поиск схожих аминокислотных последовательностей в базе данных NCBI refseq_protein, а также выравнивала их при помощи алгоритма ClustalW2 дополнительно определяя консервативные и вариабельные регионы. Поиск данных сайтов осуществлялся с учётом сохранения природного механизма формирования пространственной структуры и оценки подвижности пентапептидов.

В результате нами были разработаны последовательности фрагментов ДНК и молекул бактериоцинов с применением компьютерных методов сравнительного анализа последовательностей и биоинформатического анализа *in silico*. Данная работа позволила выявить по два подходящих вариабельных участка для всех бактериоцинов, представленных в нашем исследовании.

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия инновациям в рамках программы Старт-1 по договору №4985ГС1/85523.



Полный геном пчелиного улья: функции и пути передачи микроорганизмов

Д.В. Смутин^{1*}, А.Х. Тальдаев^{2,3}, Е.Е. Лебедев⁴, Л.С. Адонин^{2,4}

¹ Университет ИТМО, г. Санкт-Петербург, Россия

² Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, г. Москва, Россия

³ Московский физико-технический институт, г. Москва, Россия

⁴ Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО), Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия

* e-mail: dvsmutin@gmail.com

Суперорганизм пчел не может существовать без сопряженных с ним бактерий - дисбактериоз на любой стадии смертелен [1-2]. Помимо кишечных бактерий, огромную роль в жизни улья играют микробиомы других сред [2]. Они влияют на метаболизм [1], играют роль иммунной системы, направляют поведение и видообразование [1]. Известно, что кишечная микрофлора постоянна как по качественному, так и по количественному составу [2], для других метагеномов данные обрывочны.

Различные алгоритмы и цели обработки метагеномных данных требуют их нового анализа. Ключевой целью проводимой реаннотации является выявление минимального набора функциональных групп и путей их передачи. Для анализа было взято 784 образца shotgun-секвенирования. 35% из них по результатам анализа не несут метагеномной части.

Во всех исследуемых метагеномах 5-12 видов формируют 98% биомассы. Этот набор видов уникален для каждой среды улья, но некоторые из них (*Apilactobacillus kunkeei* и др.) формируют коровые сообщества в нескольких средах улья. 17 видов были выделены как коровые виды улья в целом и встречаются в каждом исследованном улье. Представители некоторых коровых групп негативно коррелируют с патогенами пчел. Эти виды могут быть индикаторами поражения или быть источником иммунитета к ним. Также были выявлены новые потенциальные оппортунисты патогенов (например, *Serratia symbiotica*), потенциально играющие роль в коллективном иммунитете улья.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственной поддержки создания и развития научных центров мирового уровня «Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение» № 75-15-2020-913.

1. Motta EVS, Moran NA. 2024. The honeybee microbiota and its impact on health and disease. *Nat Rev Microbiol* 22:122–137

2. Smutin D, Lebedev E, Selitskiy M, Panyushev N, Adonin L. 2022. Micro"bee"ota: Honey Bee Normal Microbiota as a Part of Superorganism. *Microorganisms* 10



Выделение и идентификация бактерий рода *Leuconostoc* из образцов сырого молока

А.А. Соглаева^{1*}, Е.Н. Бирюк¹, Н.К. Жабанос¹, А.А. Лабкова¹

¹ Научно-производственное республиканское дочернее унитарное предприятие «Институт мясомолочной промышленности» республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию», г. Минск, Республика Беларусь

* e-mail: alla_r@tut.by

Бактерии рода *Leuconostoc* – важная в технологическом отношении группа молочнокислых бактерий, входящая в состав заквасочных культур для производства кисломолочного масла, творога, сыров с низкой температурой второго нагревания. В молочной промышленности наибольшее значение имеют два вида: *Leuconostoc lactis* и *Leuconostoc mesenteroides*.

В наших исследованиях представлены результаты выделения и идентификации 10 культур бактерий рода *Leuconostoc*, полученных из 9 образцов сырого коровьего молока. Видовую идентификацию изолятов проводили методом секвенирования нуклеотидных последовательностей гена *obgE* с использованием разработанных нами праймеров. В результате молекулярно-генетической идентификации установлено, что 7 культур принадлежат к виду *Leuconostoc mesenteroides* (6 – к подвиду *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* и 1 – к подвиду *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*), 2 культуры идентифицированы как *Leuconostoc pseudomesenteroides*, 1 культура – *Leuconostoc falkenbergense*.

Для всех культур изучена способность к ферментации углеводов и их производных с использованием стрип систем Арі 50 СН в сочетании со средой Арі 50 СНL (BioMerieux, Франция). Результаты оценки сахаролитического профиля показали, что все штаммы *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* ферментируют разное количество сахаров и их производных (от 17 до 21), ограниченное количество сахаров (9) ферментирует штамм p1601/1-4-2. *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (p1618/1-1-2) ферментирует 6 углеводов: D-галактозу, D-глюкозу, D-мальтозу, D-сахарозу, D-лактозу и N-ацетилглюкозамин. Способность ферментировать гентиобиозу и D-тагатозу отмечена только у штамма *Leuconostoc falkenbergense*.

Все исследованные штаммы лейконостоков при развитии в молоке проявляют газообразующую активность 2-3 см и устойчивы к 4% NaCl, что позволяет в перспективе использовать их в сыроделии.



Иммунный ответ, кишечная микробиота и восприимчивость к бактериям *Bacillus thuringiensis* у личинок колорадского жука из разных частей ареала

Д.С. Терещенко^{1*}

¹ ФГБОУ ВО Новосибирский государственный аграрный университет, г. Новосибирск

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

Биологические инсектициды для защиты растений на основе бактерий *Bacillus thuringiensis* (БТ) обладают высокой специфичностью действия по отношению к различным отрядам насекомых и безопасны для окружающей среды (Roh et al., 2007). Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*) является одним из самых распространенных и опасных вредителей сельскохозяйственных культур семейства Solanacea (Alyokhin et al., 2013). При проникновении патогенных микроорганизмов в организме насекомых запускается ряд защитных реакций. Физические (кутикула покровов и кишечника насекомых), биологические (кишечная микробиота) и химические (протеазы, рН кишечника, антимикробные пептиды, иммунная система) барьеры препятствуют развитию инфекционного процесса. Распространение и приспособляемость колорадского жука в различных по климатическим условиям регионах, быстрое формирование устойчивости к широкому спектру инсектицидов, ставит вопрос за счет каких защитных реакций он обладает такой экологической пластичностью и насколько быстро формирует устойчивость к биологическим инсектицидам. В данном исследовании у личинок колорадского жука из разных частей ареала проанализированы базовые показатели клеточного и гуморального иммунитета, активность ферментов антиоксидантной и детоксицирующей систем, микробиота кишечника и восприимчивость к бактериям БТ. Было установлено, что насекомые одного вида обладают значительными вариациями, как в показателях иммунитета, биоразнообразии представителей микробиоты, так и в чувствительности к бактериальной инфекции БТ.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-16-20031) и Правительства Новосибирской области (№ р-4).



Амилоидные свойства поринов OmpC и OmpF *Escherichia coli* и *Salmonella enterica* *in vivo*

Х. Фаюд^{1,2*}, М.В. Белоусов^{1,2}, К.С. Антонец^{1,2}, М.И. Сулацкий³, А.И. Сулацкая³, А.А. Нижников^{1,2}

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

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

³ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

* e-mail: h.fayoud@arriam.ru

Белки внешней мембраны (Omp) грамотрицательных бактерий представляют собой порины, участвующие в широком спектре клеточных процессов, связанных с вирулентностью и патогенезом. Амилоиды представляют собой белковые фибриллы с особенной структурой, называемой «кросс-β», обеспечивающей им необычайную устойчивость к различным физико-химическим воздействиям. В данной работе мы исследовали амилоидные свойства поринов OmpC и OmpF из двух видов, *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*, *in vivo*.

Все четыре изученных порина показали способность к образованию амилоидных фибрилл при гетерологичной экспрессии на поверхности клеток *E. coli* в системе C-DAG. Проведенный анализ подтвердил, что колонии, секретирующие изучаемые белки Omp, содержали агрегаты, проявляющие способность связываться с красителем Конго красным и проявлять двойное лучепреломление в поляризованном свете, а также образовывали длинные, тонкие фибриллы, выявленные с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Более того, мы обнаружили, что сверхэкспрессия рекомбинантных OmpC и OmpF в штамме *E. coli* BL21(DE3) приводит к образованию устойчивых к детергентам и протеазам амилоидоподобных агрегатов и усиливает двойное лучепреломление клеток при окрашивании Конго красным. Далее мы сравнили фенотипы штаммов DE3 и *S. enterica* на среде YESCA, дополненной Конго красным. В отличие от DE3, *S. enterica* обладает конгофильным фенотипом, проявляя двойное лучепреломление в поляризованном свете. Нами было установлено, что амилоидные фибриллы четырех различных Omp, обладают токсичностью для линии клеток млекопитающих ТНР1. Этот эффект потенциально может вносить вклад в патогенные свойства соответствующих видов бактерий в ходе их взаимодействия с эукариотическим хозяином в случае, если OmpC и OmpF принимают амилоидное состояние в таких условиях. Эти данные важны в контексте понимания структурного дуализма белков Omp и его связи с патогенезом.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 24-26-00124.



Эндوفитные бактерии засухоустойчивых растений для контроля биотических и абиотических стрессов

М.В. Худяева^{1*}, В.К. Чеботарь¹, М.Е. Баганова¹, О.В. Келейникова¹, А.В. Ерофеева¹, О.С. Юзихин¹,
Е.П. Чижевская¹, И.А. Тихонович^{1,2}

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

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

* e-mail: khudyaeva@list.ru

Согласно последним исследованиям, микробиом может регулировать скорость роста, поглощение питательных веществ, устойчивость к абиотическим стрессам и устойчивость к возбудителям у растения-хозяина. Показано, что в неблагоприятных условиях может формироваться «стрессовый микробиом», обеспечивающий устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам. Собрана коллекция засухоустойчивых и восстанавливающихся после высыхания растений мари белой, верблюжьей колючки обыкновенной и житняка пустынного, произрастающих в экстремально засушливых и засоленных регионах Ставропольского края России. По оригинальной методике из корней и стеблей растений выделено 69 штаммов эндوفитных бактерий, 59 из которых относились в роду *Bacillus*. Анализ культуральных и биохимических свойств эндوفитов показал, что из 69 штаммов 4 штамма обладали азотфиксирующей, 7 штаммов фосфатмобилизирующей, 17 штаммов амилотической, 19 штаммов протеазной, 23 штамма целлюлазной и 4 штамма липазной активностью. Показано, что 24 штамма способны к росту при +450 С, а 5 штаммов к росту при +500С. Исследуемые штаммы эндوفитов были способны к росту при добавлении в среду 5% NaCl, а некоторые при добавлении 10% NaCl. Ряд штаммов эндوفитных бактерий способны продуцировать значительное количество индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Показана антифунгальная и бактерицидная активность 9 штаммов эндوفитных бактерий против фитопатогенных грибов *Fusarium oxysporum* штамм 60519, *Rhizoctonia solani* штамм 1.2 и фитопатогенных бактерий *Pectobacterium atrosepticum* штамм 5128, *Clavibacter michiganensis* штамм 5351, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* штамм 23, *Pseudomonas* sp. штамм 8949. Выделенные эндوفитные бактерии засухоустойчивых растений являются перспективными кандидатами для создания микробиологических препаратов для борьбы с биотическими и абиотическими стрессовыми факторами растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-66-10013.



Метагеномный анализ тихих вин в диагностике возбудителей их порчи

Д.Р. Хуснутдинова^{1*}, А.М. Сенина¹, М.И. Маркелова¹, В.В. Радченко^{2,3}, О.В. Дьяченко^{2,4}, Е.С. Жибеленко⁵, Е.В. Смирнова⁶, М.В. Александрова⁷, А.В. Гарковенко^{2,3,8}, Т.В. Григорьева¹

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань, Россия

² ООО «Бактериоцин», г. Краснодар, Россия

³ ООО «ДНК Экспертиза», г. Краснодар, Россия

⁴ ООО «Генетическая Экспертиза», г. Москва, Россия

⁵ ООО «Вина Лefкадии», Краснодарский край, Крымский р-н, пос. Саук-Дере, Россия

⁶ ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, г. Москва, Россия

⁷ ООО «Фармапарк», г. Москва, Россия

⁸ АНО «БИМИ», г. Краснодар, Россия

* e-mail: dilyahusn@gmail.com

Порча вина является одной из основных проблем в виноделии, приводящей к потере качества и экономическим потерям производителей. Основными виновниками, вызывающими порчу вина, принято считать культивируемые уксуснокислые и молочнокислые микроорганизмы. Тем не менее, культуральные методы не позволяют идентифицировать некультивируемые формы микроорганизмов и микроорганизмов с низкой долей в сообществе, вызывающие порчу. Метагеномный анализ микробиоты вина позволяет глубже охарактеризовать бактериальное сообщество и оценить влияние микроорганизмов на качество напитка.

Для исследования были отобраны по 5 образцов здоровых и больных вин на производственной площадке ООО «Вина Лefкадии». Выделение ДНК проводили с использованием набора "Meta Milk" (Raissol, Россия). Метагеномное секвенирование гена 16S рНК проводили на платформе Illumina MiSeq (Illumina, США), с последующим использованием программного пакета QIIME2.

Согласно полученным результатам, микробное сообщество вин разнообразно и отличается в зависимости от каждого конкретного вина и его состояния. Индекс альфа-разнообразия Шеннона у вин Пти Вердо (5,36 и 5,83), Мальбек (1,35 и 2,47) и Русан б (5,23 и 6,31) при порче продукта увеличивается, у Каберне Фран (5,38 и 2,77) и Русан а (5,88 и 5,38) уменьшается. У всех трех больных видов красного вина, в отличие от здорового, обнаружены микроорганизмы, относящиеся к 3 родам: *Blautia*, *Finegoldia*, *Corallococcus*. У белого вина: *Corynebacterium matruchotii*, *Prevotellaceae* UCG-003, *Lactobacillus iners*, *Enterobacteriaceae*, *Faecalibacterium*, *Finegoldia*, *Ornithinimicrobium*, uncultured *Ferrimicrobium*.

Обнаружены таксономические группы микроорганизмов, характерные для красного и белого больного вина, что в совокупности с ранее описанными микробными маркерами позволит виноделам своевременно диагностировать и предотвращать порчу вина, создавая более качественные продукты.

Работа выполнена на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования КФУ (проект FZSM-2023-0013).



Пространственное распределение сапрофитных бактерий в водоемах бассейна Ладожского озера

*Н.А. Чечкова¹**

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Петрозаводский государственный университет», г. Петрозаводск, Россия
* e-mail: tche4kova.natalia@yandex.ru

Пространственное распределение сапрофитных бактерий пресноводных водоемов остается надежным индикатором содержания органических веществ, загрязнения акватории стоками бытового, промышленного и сельскохозяйственного происхождения. Во многом это связано с их ролью в биогеохимических циклах, минерализации органических веществ. В настоящее время состав сообществ сапрофитных бактерий Ладожского озера изучен больше с позиции трофического статуса водоема, который по микробиологическим показателям отнесен к акватории типично мезотрофной с переходом на некоторых участках литорали в мезотрофно-эвтрофный тип [Митрукова, Капустина, Курашов, 2020]. Особенности пространственного распределения микроорганизмов, участвующих в процессах окисления избыточного содержания органики, в первоисточниках уделяется недостаточно внимания.

Согласно сказанному, с целью сравнительного анализа сообществ сапрофитных бактерий, обитающих в различных по степени антропогенного загрязнения акваториях Ладожского озера, и установления взаимосвязи сапрофитов с условиями среды выполнены исследования по изучению их биоразнообразия, численности, морфофизиологическим особенностям. В результате выполненных исследований установлено, что степень загрязнения водоёма органическими соединениями приводит к изменению условий среды обитания бактерий, в результате наблюдается замещение индикаторных видов, характеризующих экологическую особенность водоёма. Происходит динамика качественных и количественных показателей мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, которые относятся к группе, контролирующей естественное самоочищение водоема.

Список источников:

Митрукова Г.Г., Капустина Л.Л., Курашов Е. А. Экологическая оценка качества вод литоральной зоны Ладожского озера по результатам микробиологических исследований // Труды КарНЦ РАН. № 9. Сер. Лимнология. Океанология. 2020. С. 88–100.



Байкальский оксифильный штамм *Janthinobacterium* sp. как источник природных соединений для репродуктивной медицины

В.Н. Шелковникова¹*, М.Е. Дмитриева¹, А.Ю. Бельшенко¹, Н.А. Имидоева¹, А.А. Власова¹,
Т.Ю. Тельнова¹, Д.В. Аксёнов-Грибанов¹

¹ Иркутский государственный университет, Иркутск, Россия

* e-mail: shelkovnikova551@gmail.com

По данным ВОЗ на 2023 год, около 17,5% взрослого населения имеют репродуктивную дисфункцию. Поскольку методы получения новых лекарственных препаратов с помощью химической модификации имеют естественные ограничения, актуальной задачей выступает поиск новых биологически активных природных соединений – прототипов будущих лекарственных препаратов. Рядом исследований показано, что микроорганизмы озера Байкал обладают бесспорным преимуществом по числу новых и ранее неизученных природных соединений. Таким образом, экосистема озера Байкал предоставляет уникальные возможности по трансляции антиоксидантного потенциала микроорганизмов для репродуктивной медицины.

Целью данного исследования являлась оценка влияния экстракта оксифильного штамма *Janthinobacterium* sp. 2021M8 на сперматозоиды *in vitro*. В работе был использован микроскоп PLS-MY-B041A-3, программное обеспечение «Semen and sperm quality analyze system» (V1.12) и 96 луночный планшет. Для контрольных условий в планшет наносили метанол, высушивали до полного испарения и добавляли эякулят. В эксперименте были использованы концентрированный и разбавленный экстракты, а также непосредственно фракции экстракта. Измерение физиологических параметров сперматозоидов проводили после 1, 3 и 6 часов инкубации при 37°C по протоколам ВОЗ. Анализ проводили в 3 аналитических повторностях.

Согласно полученным результатам, концентрированный экстракт вызывал гибель сперматозоидов после 3 часов экспозиции. При воздействии разбавленного экстракта спустя 6 часов сперматозоиды сохраняли свою жизнеспособность, в отличии от контрольных условий. Около половины полученных фракций экстракта штамма обладали спермицидным эффектом. В то же время, некоторые фракции способствовали повышению подвижности и скорости сперматозоидов. Таким образом, полученные материалы могут способствовать разработке препаратов для улучшения качества эякулята.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта Минобрнауки России FZZE-2024-0003.



Поиск дегидрогеназ, ответственных за катаболизм сорбитола в дрожжах *Yarrowia lipolytica*

А.М. Шумрикова^{1*}, М.О. Таратынова², Е.Ю. Юзбашева^{3,4}, С.П. Синеокий²

¹ Московский политехнический университет, Москва, Россия

² Биоресурсный центр – Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов Курчатковского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ BioKai Inc., 40471 Encyclopedia Circle, Fremont 94538, CA, USA

⁴ BioMediCan Inc., 40471 Encyclopedia Circle, Fremont 94538, CA, USA

* e-mail: raibowseal@yandex.ru

Аскомицетовые дрожжи *Y. lipolytica* являются перспективным продуцентом ряда ценных химических соединений, таких как каротиноиды, полиолы, витамины и др. *Y. lipolytica* используют в путях своего метаболизма множество полиолов, в том числе сорбитол. Данный многоатомный спирт находит свое широкое применение в синтезе некоторых органических кислот, косметике, медицине и производстве продуктов питания. К сожалению, в литературе отсутствуют данные, ясно открывающие биохимические пути катаболизма сорбитола в *Y. lipolytica*.

В данной работе был выделен ряд генов, предположительно влияющих на катаболизм полиолов, в частности: *AraDH1* (YALI1_F03452g), *AraDH2* (YALI1_E06616g), кодирующих D-арабитолдегидрогеназу 1 и 2, соответственно, *MDH1* (YALI1_B21134g), *MDH2* (YALI1_D24054g), кодирующих D-маннитдегидрогеназу 1 и 2, соответственно, *XDH* (YALI1_E15452g), кодирующий ксилитдегидрогеназу, а также ген *SFA1* (YALI1_F13170g), найденный по выравниванию с нуклеотидной последовательностью гена *SFA1 Saccharomyces cerevisiae* YDL168w, обладающего бифункциональной алкогольдегидрогеназной и формальдегиддегидрогеназной активностью.

В штамме *Y. lipolytica* W29 $\Delta ku70$ получены одиночные делеции каждого из вышеперечисленных генов. Полученные штаммы культивировали на минимальной среде YNB, Himedia G091 с 0,1 М калий фосфатным буфером pH 6,8 при добавлении 1,5% D-сорбитола на качалочном инкубаторе (Advantec MFS Inc, Япония). Оптическую плотность культуры измеряли при длине волны 600 нм.

В данных условиях показано, что рост на сорбитоле в качестве источника углерода был замедленным и в среднем выход культуры в стационарную фазу происходил после 250 часа культивирования. Также было показано, что штамм W29 $\Delta ku70 \Delta XDH$ единственный не демонстрировал рост на сорбитоле, что указывает на его сорбитолдегидрогеназную активность.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации Грант № 075-15-2019-1659.



Исследование влияния дрожжей на ароматический профиль красных сухих вин из сорта винограда Каберне Совиньон

Т.А. Шутова^{1}, А.А. Колосова¹, В.М. Пожидаев¹, А.В. Камаев¹, Е.А. Провоторова¹, Д.Ю. Федосов¹*

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

* e-mail: t.a.shutova@mail.ru

Аромат является одной из основных характеристик, определяющих качество вин. Дрожжи способствуют формированию разнообразия и количественного содержания ароматических соединений, развитию различных тонов и оттенков в ароматическом профиле. Для вин из сорта Каберне Совиньон характерными и типичными ароматическими дескрипторами являются тона черной смородины, вишни и ежевики.

В данной работе представлены результаты исследований 61 штамма дрожжей, выделенных из винограда российских винодельческих регионов Крыма, Кубани и Дона. В винах, приготовленных из сорта Каберне Совиньон с применением исследуемых штаммов, были выделены доминирующие ароматические дескрипторы. Получены данные состава следующих ароматических соединений: этилацетата, бензальдегида, спиртов (метанола, пропанола-1, изобутанола, изоамилола, фенилэтилового спирта), альдегидов и фенолкарбоновых кислот (галловой, ванилиновой, сиреневой, п-кумаровой).

Лучшие вина характеризовались минимальной концентрацией ацетальдегида 4-6 мг/дм³. Бензальдегид, являющийся прекурсором вишневых оттенков, был обнаружен в винах в диапазоне от 41 до 219 мг/дм³. У большинства вин с приглушенным ароматом суммарная концентрация спиртов не превышала 200 мг/дм³. У вин с более интенсивным ароматом сумма спиртов варьировалась от 250 до 400 мг/дм³. Положительное влияние на ароматический профиль наблюдалось у вин с более высокими концентрациями следующих соединений: этилацетата 10-19 мг/дм³, придающего винам фруктовые оттенки; ванилиновой кислоты 14.3-16.7 мг/дм³; сиреневой кислоты 16-24 мг/дм³.

В результате органолептического анализа вин были выделены разнообразные группы оттенков аромата цветочного, ягодного, плодового, животного, растительного и землистого направления. Из исследованных штаммов только два способствовали развитию тонов смородины, вишни, красных и черных ягод, типичных для вин из сорта Каберне Совиньон.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Бактериальная и микромицетная контаминация представителей секции *Siphisia* (род *Aristolochia*)

Е.П. Юсупова^{1*}, Е.А. Богатыренко², О.В. Наконечная¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Сектор микрклонального размножения лесных, сельскохозяйственных и декоративных растений, Владивосток, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Дальневосточный федеральный университет, Институт мирового океана, Лаборатория морской микробиологии, Владивосток, Россия

* e-mail: ve.foxhole@gmail.com

Представители рода *Aristolochia* L. (Aristolochiaceae Juss.) являются реликтами третичной флоры (González et al., 2014). Растения обладают ценными лекарственными свойствами, на протяжении нескольких веков их использовали для лечения широкого спектра соматических и инфекционных заболеваний. Многие виды рода характеризуются ограниченным ареалом, являются редкими и исчезающими. Особенности репродуктивной биологии видов в некоторых случаях определяют малочисленность природных популяций. Кроме того, способность к развитию растений может быть связана со степенью зараженности различными фитопатогенами. Поскольку известно, что растения при заражении медленнее растут, позже достигают репродуктивного состояния, быстрее стареют и погибают, то вопрос о диагностировании патогенных микроорганизмов стоит остро. К настоящему времени представлены отрывочные сведения о микробиоте растений рода *Aristolochia*, известно около 40 видов грибов, развивающихся на видах рода (Farr, Rossman, 2019). Данные о присутствии бактерий у видов *Aristolochia* в известной нам литературе нет. Поэтому целью данного исследования было выявление и определение бактериальных и микромицетных контаминантов у видов секции *Siphisia* рода *Aristolochia* с применением методов световой микроскопии и секвенирования. Представленные результаты обсуждаются.

Farr D.F., Rossman A.Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved 04.02.2019, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.

González, F., Wagner, S. T., Salomo, K., Symmank, L., Samain, M. S., Isnard, S., ... & Wanke, S. (2014). Present trans-Pacific disjunct distribution of *Aristolochia* subgenus *I sotrema* (Aristolochiaceae) was shaped by dispersal, vicariance and extinction. *Journal of Biogeography*, 41(2), 380-391.



Сравнение вирулентности подвидов бактерий *Bacillus thuringiensis* по отношению к различным отрядам насекомых

Е.А. Якимчук^{1*}, Е.В. Гризанова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет», Лаборатория биологической защиты растений и биотехнологии, Новосибирск, Россия

* e-mail: eakimchuk@gmail.com

Бактерии *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) – распространенный в природе вид энтомопатогенных бактерий, являющийся основой биопрепаратов для защиты растений от насекомых – вредителей сельскохозяйственных культур. Продолжительное использование одних и тех же подвидов бактерий приводит к снижению или потере их вирулентности, а также формированию резистентных популяций насекомых, в следствии чего эффективность биологических препаратов уменьшается. Поиск новых перспективных высоковирулентных подвидов бактерий *Bt* позволит расширить спектр инсектицидных токсинов и создать новых биологические препараты. Изучение механизмов резистентности насекомых – вредителей способствует определению новых способов преодоления их устойчивости к бактериям *Bt*. В данном исследовании проведено изучение состава инсектицидных Cry-белков и сравнение вирулентности двух штаммов, выделенных при эпизоотии насекомых, бактерий *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* и subsp. *thompsoni* по отношению к различным отрядам насекомых. Проведено сравнение течения инфекционного процесса у личинок вошинной огневки *Galleria mellonella* при заражении изучаемыми штаммами бактерий.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 24-16-00113.



Микробиологическая характеристика многолетнемерзлых отложений в районе Батагайского термокарста

П.М. Яковлева^{1}, М.А. Петрова¹*

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр
«Курчатовский институт»

* e-mail: jakovlevapolina@gmail.com

К настоящему времени доказано, что многолетнемерзлые отложения являются естественным хранилищем древних микробных сообществ, на протяжении сотен тысяч лет. Причем численность микроорганизмов в мерзлоте составляет 10^3 - 10^8 кл/г. Интерес к изучению «древних» бактерий из мерзлоты не только не уменьшается, но даже постоянно увеличивается, в частности, из-за проблемы глобального потепления. Возрастающий интерес к древним бактериям и археям объясняется также уникальностью их свойств, часто находящихся практическое применение. Несмотря на долгую историю исследований микроорганизмов в мерзлоте Восточной Сибири, на ее территории еще остались неисследованные районы. Одним из них является район самой крупной термокарстовой Батагайской котловины, расположенного в районе хребта Черского в самой континентальной области Восточной Сибири. Нами были проведены пилотные микробиологические исследования многолетнемерзлых отложений поблизости от Батагайского термокарста. Методом прямого счета определена численность бактериальных клеток в образцах всех горизонтов, вскрытых 70-метровой скважиной. Общая численность бактериальных клеток незначительно колебалась от $5,5 \cdot 10^7$ кл/г, в сезонно талом слое, до $1,4 \cdot 10^7$ – в самом нижнем горизонте. При этом число жизнеспособных клеток было максимальным в верхней части скважины, составляя максимум $2,8 \cdot 10^6$ кое/г и постепенно снижалось до $5,0 \cdot 10^2$. В самом нижнем горизонте жизнеспособных бактерий не удалось обнаружить. При 25С колонии вырастали во всех образцах, тогда как при 5С - преимущественно из образцов верхних горизонтов. Все выросшие изоляты относились к грамположительным бактериям, и даже применение специальных подходов не позволило выделить грамотрицательные бактерии. Таким образом, впервые показано, что по показателям общей численности и числа жизнеспособных бактерий вечная мерзлота в районе Батагайского термокарста сходна с мерзлотой Восточной Сибири.

Работа проведена в рамках выполнения Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

© Авторы, 2024

ISBN 978-5-00244-655-1



**Сборник тезисов III Международной 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 15.07.2024.
Объем 2,14 Мбайт. Электрон. текстовые данные. Заказ 717.