

Обложка

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск
Федеральный исследовательский центр «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского
Сибирского отделения Российской академии наук», г. Иркутск
Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, г. Иркутск
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, г. Санкт-Петербург
Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа
Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов - обособленное
структурное подразделение Федерального исследовательского центра «Саратовский
научный центр Российской академии наук» г. Саратов



МАТЕРИАЛЫ

IV Всероссийской конференции с международным участием
**«МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ К РАЗЛИЧНЫМ
УСЛОВИЯМ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ»**

24 -29 августа 2026 г., Иркутск-Байкал

УДК 58(063)

ББК 28.5л0

Р44

Ответственный редактор

Л.А. Беловежец

Редакционная коллегия:

Ю.А. Маркова, Н.В. Филинова, Е.О. **Приставка,**

Р44

MICRAD 2026 : материалы IV Всероссийской конференции с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания». г. Иркутск – парк-отель Уюга, 24-29 сентября 2026. / отв. ред. Л.А. Беловежец. – Иркутск : Издательство ИГУ, 2026. – с.

ISBN

В докладах представлены новейшие результаты российских и зарубежных ученых, посвященные молекулярным, клеточным и экологическим стратегиям микроорганизмов, обеспечивающим выживание и успешную деятельность в экстремальных и изменяющихся условиях. Рассматриваются вопросы по геномике, транскриптомике и протеомике адаптационных ответов, феноменам формирования биоплёнок, а также исследованиям микробных сообществ, симбиозов и эволюционных процессов. Обсуждается возможность использования биотехнологических методов для решения экофизиологических проблем микробиологии. Особое внимание уделено вопросам возможности управления адаптационным потенциалом микроорганизмов и прикладным аспектам — биоремедиации, биотехнологии, прогнозированию влияния климатических изменений и контролю патогенов.

Сборник представляет интерес для микробиологов, экологов, биотехнологов, клиницистов и специалистов в смежных дисциплинах, а также для студентов и аспирантов биологических специальностей высших учебных заведений. Сборник обеспечивает междисциплинарную платформу для обмена знаниями и выработки новых научных направлений.

УДК 58(063)

ББК 28.5л0

ISBN

СИФИБР СО РАН, 2026

СОДЕРЖАНИЕ

IV Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания» MICRAD 2026

Секция 1. Механизмы адаптации микроорганизмов к факторам внешней среды

Андреева И.С., Тотменина, О.Д., Мошкин А.Д., Сафатов А.С. Жизнеспособность пигментированных микроорганизмов в составе атмосферных аэрозолей при горизонтальном переносе на большие расстояния.....

Астахов М.М., Язева А.Д., Томашевич Н.С. Разнообразие клубеньковых бактерий Краснодарского края и их потенциал в защите сои от заболеваний.....

Багаева Д.И., Демина Г.Р., Панина И.С., Крылов Н.А., Хренова М.Г., Агафонов М.О., Савицкий А.П., Ефремов Р.Г., Капрельянц А.С., Шлеева М.О. Особенности катализа метилирования копропорфирина у *Mycobacterium smegmatis* при переходе в состояние покоя.....

Белоусов А.И., Попова Н.А. Оценка функциональной избыточности микробиоты пищеварительной системы на примере альтернативных путей метаболизма.....

Белых О.И., Краснопеов А.Ю., Потапов С.А., Гутник Д.И., Сорокикова Е.Г., Тихонова И.В. Ультрамикробактерии озера Байкал.....

Бурыгин Г.Л., Балабанова Ю.А. Молекулярные механизмы множественной устойчивости бактерии *Achromobacter insolitus* lcu2.....

Гамзаева Р.С. Сравнительный анализ численности актиномицетов в профиле севооборотной и залежной почв.....

Герасимчук А.Л., Глухова Л.Б., Сысоева А.Н., Ерофеевская Л.А., Франк Ю.А., Марченко Е.С. Скрининг и идентификация микроорганизмов, участвующих в процессах биологического заражения базальтопластиковых материалов в условиях открытых полигонов климатических испытаний в г. Якутск

Граскова И.А., Романова И.М., Перфильева А.И., Сухов Б.Г. Влияние нанокмполитов селена и арабиногалактана на жирнокислотный состав мембраны бактерии *Clavibacter sepedonicus*.....

Зайцева Ю.В., Злобин И.В., Перова Е.Д., Соколов М.Н. Нетипичная организация генов семейства *luxI/luxR* в АГЛ-зависимых quorum sensing системах.....

Изотова А.О., Комова А.В., Хазиева К.Р., Качмазов Г.С., Тошаков С.В. Доминирование железоокисляющих хемолитотрофов в микробных сообществах нарзанов Джилы-Су (Приэльбрусье).....

Касаткина С.И., Багаева Д.И., Демина Г.Р., Савицкий А.П., Шлеева М.О. Модуляция метаболизма порфиринов у микобактерий как подход к селективной фотодинамической терапии.....

Комарова Л.П., Криворучко А.В., Ившина И.Б. Катаболическая избыточность бактерий рода *Rhodococcus* при окислении *n*-алканов.....

Майорова Е.В., Петушкова Е.П. Роль малил-коа-тиоэстеразы в адаптации к изменению ростового субстрата у *Rhodobacter capsulatus*.....

- Максимова Ю.Г., Панькова А.А.** Влияние нативной и иммобилизованной на углеродных наночастицах ацилазы на микробные биопленки.....
- Миндубаев А.З., Бабынин Э.В.** Биотехнологический способ детоксикации белого фосфора при помощи экстремотолерантных аспергиллов.....
- Назаров П.А., Каракозова М.В.** Адаптационный потенциал эндофитных микроорганизмов в биотехнологии и перспективы получения новых антибиотиков.....
- Нестерова Л.Ю., Гельцер Д.В., Цыганов И.В., Ткаченко А.Г.** Экспрессия генов системы quorum sensing 2 типа в различных условиях.....
- Нурминская Ю.В., Петрушин И.С., Романова И.М., Карпова М.С., Маркова Ю.А.** Адаптационные механизмы штамма *Lysobacter antibioticus* Hz25 к абиотическим факторам среды.....
- Осовских Н.П., Банковский Е.А., Голдобин К.В., Шлеева М.О.** Влияние селена на устойчивость микобактерий к окислительному стрессу.....
- Петушкова Е.П., Сердюк О.П., Майорова Е.В.** Метаболизм пурпурных несерных бактерий в разных условиях роста на средах с малатом и ацетатом.....
- Позднякова-Филатова И.Ю., Захарова М.В.** Активация транскрипции белками LysR-семейства на примере регулятора генов катаболизма салицилата SgpR.....
- Полыгалов М.А., Ившина И.Б.** Ответные реакции нокардиоформных актиномицетов *Rhodococcus* на воздействие кетопрофена: от стресса к биодеградации фармполлутанта.....
- Розова О.Н., Бут С.Ю., Шавкунов К.С., Шустова М.Н., Лещенко Л.Д., Хмеленина В.Н., Мустахимов И.И.** Транскриптомные изменения у облигатного метанотрофа *Methylotheobacterium alcaliphilum* при дефиците азота.....
- Романова И.М., Нурминская Ю.В., Маркова Ю.А., Граскова И.А.** Особенности жирнокислотного профиля штамма *Lysobacter antibioticus* Hz25 как способ существования в экстремальных условиях.....
- Савичева Ю.В., Исаева М.П.** Анализ генных кластеров биосинтеза полисахаридов вибрионов клады *Mediterranei* из коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН.....
- Сахарова С.А., Януцевич Е.А., Данилова О.А., Кочкина Г.А., Терёшина В.М.** Адаптация психротолерантного гриба *Mucor flavus* к стрессу клеточной стенки, вызванному азокрасителями.....
- Терёшина В.М., Януцевич Е.А., Сахарова С.А., Кочкина Г.А., Данилова О.А.** Стресс клеточной стенки у мицелиальных грибов.....
- Тян С.М., Ившина И.Б.** Метаболические и ультраструктурные механизмы адаптации *Gordonia alkanivorans* к фармполлутанту мелоксикаму.....
- А.П. Юрков, А.А. Крюков, Т.Р. Кудряшова, Ю.В. Косильников, А.И. Косильникова, А.И. Беляева** Биоразнообразие грибов арбускулярной микоризы как основа устойчивости наземных экосистем.....

Секция 2. Адаптация микроорганизмов к условиям обитания в организме хозяина (животное, растение, человек)

- Андронов Е.Е., Проворов Н.А.** Жизнь с растением: адаптационный *toolbox* ризобий...
- Быконя М.В., Батаева Ю.В.** *Lactobacillus plantarum* - выживаемость и пробиотические свойства в кишечнике человека.....

Быченко О.С., Фомичева Ю.С., Скворцова Ю.В., Григоров А.С., Мартини Б.А., Салина Е.Г., Ажикина Т.Л. Исследование роли внеклеточных везикул макрофагов в иммунной защите при инфекции *Mycobacterium abscessus*

Бычкова А.А., Зайцева Ю.В. Пектолитические бактерии рода *Bacillus* как нетипичные патогены *Phalaenopsis* sp. в культуре *in vitro*.....

Галямина М.А., Побегуц О.В., Михайлычева М.В., Сикамов К.В., Уразаева Д.Р., Смирнов И.П., Горбачев А.Ю. Протеогеномное профилирование клинических изолятов *Mycoplasma hominis* как основа для выявления механизмов адаптации в организме хозяина.....

Донская М.В. Эффективность симбиотического взаимодействия между азотфиксирующими бактериями и растениями нута в условиях Орловской области

Зубарев В.М., Кравчук О.И., Люпина Ю.В., Сутормин Д.А., Русанова А.Н., Ри М.Т. Анализ генома внутриклеточного бактериального симбионта губки *Halisarca dujardini*.....

Кадыко В.В., Селиванова П.А., Карипова М.О., Кочергина Д.А., Кузнецова М.В. Сравнительная оценка адгезивной активности природных и клинических штаммов *Escherichia coli* в отношении эритроцитов.....

Каллистова К.Д., Белобородова Л.А., Маторина А.Е., Должикова К.С., Киенская К.И., Буторова И.А. Микробиота кожи человека и возможности ее регуляции.....

Клименко Е.С., Топорков В.Ю., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Смурова Н.Е., Зугеева Р.Е. Биоинформатический анализ локализации генов вирулентности и антибиотикорезистентности в плазмидах коллекционных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*.....

Кулинич С.В., Орлова Е.А., Огарков О.Б. Уреазы сателлитной микробиоты туберкулёзных очагов: механизм адаптации или фактор патогенности?.....

Кулишова Л.М., Юдкина А.В., Жарков Д.О. Особенности эксцизионной репарации оснований днк микроорганизма *Desulfobulbus oralis*.....

Макарова Л.Е., Каропова М.С., Горбенко И.В., Константинов Ю.М., Бизиков П.А., Маркова Ю.А. Характеристика эндофитных бактерий штамма *dietzia natronolimnaea* ps7, изолированных из растений гороха (*Pisum sativum* l.) сорта Марат.....

Макулова В.С., Трибе Е.А., Буторова И.А., Романычева О.В., Белова И.А. Влияние активных компонентов зубных паст на микробное сообщество полости рта.....

Маркелова Н.М., Глазунова О.А., Аликина О.В., Кольжецов Н.П., Шавкунов К.С., Озолин О.Н. Оценка влияния коротких секретиремых РНК на композиционный состав кишечного микробиома.....

Мартынюк П.А., Батаева Ю.В. Молекулярно-генетические механизмы адаптации *Lactobacillus* в желудочно-кишечном тракте крупного рогатого скота

Meshcherov A.R., Vishnevskaya A.I., Malyshev N.V., Kostyukevich Y.I., Gentzbittel L., Ben C. Metabolomic alterations of verticillium alfalfae during interactions with plant host metabolites.....

Перцев В.С., Киричек Е.А., Цыганов В.Е. Скрининг штаммов ризобий — симбионтов *Glycine max* и *G. soja* из коллекции ВКСМ на способность формировать эффективные клубеньки при различных температурах.....

Сидорова Н.А., Савушкин А.И. Адаптация микробиома радужной форели к температурному стрессу: от физиологических сдвигов до функциональной перестройки сообщества

Смурова Н.Е., Белькова Н.Л., Зугеева Р.Е., Клименко Е.С., Немченко У.М., Григорова Е.В. Анализ генома *Pseudoxanthomonas kaohsiungensis*: поиск различий между природными и клиническими штаммами.....

Соловьева К.И., Тарасова Д.А., Пронович Н.А., Курынцева П.А. Эндофитное микробное сообщество семян пшеницы мягкой (*Triticum aestivum*): зачем мы здесь сегодня собрались?.....

Тендюк Н.В., Васильев Р., Макшакова О.Н., Петрова О.Е., Горшков В.Ю. Как манипулировать защитными системами организма-хозяина? Белки SVX пектолитических бактерий – ранее неизвестные индукторы восприимчивых ответов растений.....

Цыганова А.В., Цыганов В.Е. Механизмы развития азотфиксирующих клубеньков, формируемых в результате межклеточной инфекции.....

Цыганов В.Е., Китаева А.Б., Кусакин П.Г., Горшков А.П., Цыганова А.В. Тубулиновый цитоскелет в растительно-микробных взаимодействиях.....

Шлеева М.О., Багаева Д.И., Демина Г.Р., Линге И.А., Агафонов М.О., Капрельянц А.С., Савицкий А.П. Тетраметиловый эфир копропорфирина III как фактор адаптации микобактерий к состоянию покоя и мишень для фотодинамической инактивации.....

Юзихин О.С., Шапошников А.И., Белорусов К.Н., Фролова Г.М., Белимов А.А., Гоголев Ю.В. Биотрансформация фитогормонов ризосферными микроорганизмами.....

Секция 3. Микробные сообщества как функциональные единицы адаптации

Бархутова Д.Д., Данилова Э.В., Лаврентьева Е.В. «Генетический резервуар» микробного сообщества гидротерм Байкальской рифтовой зоны.....

Гамзаева Р.С. Изменение структуры микробного сообщества и активности каталазы дерново-подзолистой почвы при нефтяном загрязнении.....

Дагурова О.П., Зайцева С.В. разнообразие микробных сообществ рек Селенга и Уда в городском ландшафте (г. Улан-удэ).....

Каюмов А.Р., Миронова А.В., Айзатуллина Л.М., Лисовская С.А. Молекулярные механизмы изменения восприимчивости микроорганизмов к антимикробным препаратам в смешанных сообществах.....

Секция 4. Целенаправленное использование адаптационного потенциала микроорганизмов в биотехнологии

Байбаков В.И. Гибернация бифидобактерий – феномен штамма и природное свойство.....

Белова В.С., Фильштейн А.П., Кузьмич А.С., Романенко Л.А., Кокоулин М.С. Структура и иммунобиологические свойства липоолигосахарида глубоководной морской бактерии *Rheinheimera pacifica* КММ 1406^T

Беловежец Л.А., Филинова Н.В., Белоусов Д.С. Создание лабораторного фонда микоризообразующих грибов Восточной Сибири.....

Белоусов Д.С., Филинова Н.В., Беловежец Л.А. Масштабирование процесса глубинного культивирования мицелия микоризообразующих грибов.....

Большакова Д.В., Овчаренко Н.В., Мандрик-Литвинкович М.Н., Купцов В.Н., Коломиец Э.И. Анализ генома бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-262 – основы биопестицида «Фрутин».....

Большакова Д.В., Шмыга Е.Ю., Мандрик-Литвинкович М.Н., Коломиец Э.И. Анализ состояния почвенного микробиома при применении комплексного микробного препарата «Биопродуктин».....

Бронникова Ю.А., Сильченко А.С., Недашковская О.И., Исаева М.П. Идентификация и полисахарид-деградирующий потенциал морских бактерий, выделенных из бурой водоросли *Fucus evanescens* (б. Кратерная, о. Янкича).....

Вершинина З.Р., Чубукова О.В., Хакимова Л.Р., Лавина А.М., Бигалеева А.Ш. Потенциал использования антифунгальных метаболитов псевдомонад в сельском хозяйстве.....

Гладышева Е.К. Исследование влияния раствора, полученного после обработки шелухи овса, на биосинтез бактериальной наноцеллюлозы.....

Григорян Л.Н., Батаева Ю.В. Вирулицидные свойства почвенных актинобактерий аридной зоны.....

Жаркова Е.К. Использование адаптационного потенциала тимьян-ассоциированной бактерии *Pseudomonas* sp. Uqm 42110 для устранения аллелопатического воздействия фенольных соединений тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.).....

Жуков В.А., Журавлёв И.Ю., Ляховец А.А., Матвеев А.Г., Жернаков А.И., Зорин Е.А., Сулима А.С., Тихонович И.А. «Умный горох»: создание высокоспецифичной и высокоэффективной растительно-микробной системы в полевых условиях.....

Зугеева Р.Е., Смурова Н.Е., Клименко Е.С., Колобов М.Д., Белькова Н.Л., Семенова Н.В., Рычкова Л.В. Комбинированный *in vitro/in silico* алгоритм подбора штаммов лактобацилл для создания пробиотических консорциумов.....

Иванова К.Г., Максимова Ю.Г. Применение экстремотолерантных микроорганизмов для получения органического удобрения на основе побочных продуктов птицеводства.....

Ирkitова А.Н., Лапшина Н.В., Дудник Д.Е., Малкова А.В. Микробный антагонизм – механизм адаптации или ценный биотехнологический признак?.....

Камнев А.А. Изучение путей адаптации бактерий к растворимым формам селена: молекулярно-спектроскопические подходы.....

Киенская К.И., Должикова К.С., Буторова И.А., Кухаренко А.В., Сардушкин М.В. Влияние химической модификации молекулы 1-[(2r,3r,4s,5r)-3,4-дигидрокси-5-(гидроксиметил)оксолан-2-ил]-1h-1,2,4- триазол -3-карбоксамид на противогрибковую активность.....

Клименко Е.С., Белькова Н.Л., Смурова Н.Е., Зугеева Р.Е., Сутурина Л.В. Геномный портрет и оценка безопасности пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* N68-ZH.....

Козобкова Н.В., Яшунский Д.В., Нифантьев Н.Э., Савицкий А.П., Шлеева М.О. Использование системы транспорта трегалозы для адресной фотосенсибилизации микобактерий.....

Кокоулин М.С., Кузьмич А.С., Белова В.С., Фильштейн А.П., Шитова П.В., Исаева К.В., Савичева Ю.В., Исаева М.П., Романенко Л.А. Углеводсодержащие биополимеры морских грамотрицательных бактерий: структурное разнообразие, роль в адаптации и биологические свойства.....

Криницына А.А., Цавкелова, Е.А. Чурикова О.А. Влияние бактерий на рост и ризогенез микропобегов сирени при их совместном культивировании *in vitro*.....

Кульбаева Л.А., Кузина Е.В., Искужина М.Г., Мухаматдьярова С.Р., Рафикова Г.Ф., Коршунова Т.Ю. Стимулирование роста растений с помощью пленкообразующих бактерий.....

Мальцева П.Ю., Плотницкая Н.А., Ившина И.Б. Бактериальная трансформация растительных монотерпеноидов для получения биоактивных соединений.....

Mikheeva E.I. Adaptive response of scoby to yeast extract and tryptone as nitrogen sources during bacterial cellulose synthesis.....

Mikheeva E.I. Metabolic plasticity of scoby in the utilization of maltose and starch as the basis for adaptive synthesis of bacterial cellulose.....

- Нюньков П.А., Лалова М.В., Бабусенко Е.С., Цымбал В.В.** Адаптационные возможности ассоциативной культуры на основе метанооксиляющих бактерий в зависимости от условий культивирования.....
- Приставка Е.О., Шадрина Е.С., Беловежец Л.А.** штамм *Trichoderma harzianum* Tb-2 – эффективный биодеструктор имазамокса.....
- Саловарова В.П., Борисенко А.Ю., Рогова К.В.** Кинетические параметры роста референтного штамма *E. coli* в LB-бульоне и их значение для биотехнологического масштабирования.....
- Скиба Е.А., Зенкова А.А.** раствор азотной кислоты после обработки *Miscanthus X giganteus* как компонент питательных сред для синтеза бактериальной наноцеллюлозы и биоэтанола.....
- Стоянчук К.Ю., Сивко М.А., Кузьмицкая А.А., Калёнов С.В.** Адаптационный потенциал экстремально галофильных микроорганизмов в биотехнологии.....
- Стрекаловская Е.И., Жарков Н.П., Маслеева А.В., Самульцев Д.О., Беловежец Л.А.** *Rhodococcus* sp. как перспективный продуцент биосурфактантов.....
- Филинова Н.В., Белоусов Д.С., Беловежец Л.А.** Оценка биоресурсного потенциала микоризообразующих грибов Восточной Сибири для искусственной микоризации сеянцев хвойных пород.....
- Худокормов А.А., Моисеева Е.В., Самков А.А., Волченко Н.Н.** Адаптационный потенциал аборигенной нефтеокисляющей микробиоты в условиях загрязнения мазутом.....
- Худокормов А.А., Моисеева Е.В., Самков А.С., Волченко Н.Н., Круглова М.Н.** Биотехнологический потенциал микробного сообщества нефтешламов разного срока хранения на территории Краснодарского края.....
- Шавыркина Н.А.** Перспективы применения мискантусной послеспиртовой барды для биосинтеза бактериальной наноцеллюлозы.....
- Шмыга Е.Ю., Большакова Д.В., Сверчкова Н.В., Коломиец Э.И.** Оценка эффективности действия комплексного микробного препарата на качественный и количественный состав микробиоты воды.....

**IV Всероссийская конференция с международным участием
«МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ К
РАЗЛИЧНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ»
MICRAD 2026**

**Секция 1
МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ
К ФАКТОРАМ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ**

**ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ПИГМЕНТИРОВАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В
СОСТАВЕ АТМОСФЕРНЫХ АЭРОЗОЛЕЙ ПРИ ГОРИЗОНТАЛЬНОМ ПЕРЕНОСЕ
НА БОЛЬШИЕ РАССТОЯНИЯ**

И.С. Андреева, О.Д. Тотменина, А.Д. Мошкин, А.С. Сафатов

Федеральное бюджетное учреждение науки государственный научный центр вирусологии
и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, 630559, р.п. Кольцово Новосибирской
области, Российская Федерация; andreeva_is@vector.nsc.ru

Введение. Атмосфера не является благоприятной средой для выживания микроорганизмов. Среди негативных факторов, разрушающих микробные клетки, солнечная радиация, пониженная влажность, приводящая к гибели клеток в результате дегидратации, возможность окислительного стресса, недостаток питания и другие. Выживают в таких условиях микроорганизмы, имеющие какие-либо механизмы защиты, прежде всего это споры грибов и спорообразующих бактерий, имеющие сложные многослойные оболочки, позволяющие пережить неблагоприятные условия среды. Множество функций, также обеспечивающих выживание и адаптацию микроорганизмов в разнообразных экологических условиях, выполняют пигменты, образуемые микроорганизмами различных таксонов. В ранее проведенной нами работе по сравнительному исследованию микробиоты атмосферы двух регионов (самолетное зондирование атмосферы Васюганских болот и Караканского бора, сентябрь 2018 г.), контрастно отличающихся природными условиями, выявлено большое сходство в составе и численности микроорганизмов в атмосферных аэрозолях, значительно превышающие обычные их фоновые среднегодовые значения [Andreeva, 2023]. Это явление было объяснено как следствие масштабного горизонтального движения слоев воздуха с высокой степенью контаминации микроорганизмами.

Цель исследования – определение состава пигментированных микроорганизмов в образцах атмосферных аэрозолей, выявленных при их длительном витании в воздухе во время горизонтального переноса.

Материалы и методы. Для учета пигментированных форм микроорганизмов использовали образцы атмосферных аэрозолей, отобранных над Васюганскими болотами и Караканским лесным массивом на высотах до 7000 м. Культивировали исследуемые микроорганизмы на средах выделения: бактерии - на среде ГРМ, грибы – на среде Сабуро (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора, Оболенск, Россия) при температуре 20-28°C. Хранение выделенных микроорганизмов осуществляется при низкотемпературном замораживании в коллекции природных изолятов отдела биофизики и экологических исследований ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Результаты. Пигменты являются продуктами вторичного метаболизма, синтезируются различными видами бактерий, грибов и водорослей, представлены соединениями

различных классов, таких как хиноны, антоцианы, каротиноиды, пирролы, феназиновые красители и др. [José-Luis Barredo, 2012]. Среди пигментированных микроорганизмов, выделенных из исследуемых образцов атмосферных аэрозолей, преобладали грибы рода *Aureobasidium*, продуцирующие меланины, составляющие до $1-5 \times 10^3$ КОЕ/мл суспензии образца аэрозоля, что составляет в отдельных образцах до 2/3 от общего количества изолятов. Обнаружены также черные грибы рода *Aspergillus*, дрожжи рода *Cryptococcus*, *Bullera*, *Rhodotorula* и *Sporobolomyces*, синтезирующие красные пигменты; пигментированные бактерии (желтые, розовые, красные) родов *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, за окраску которых ответственны каратиноиды. Известно, что стабильность каратиноидов, чувствительных к окислению и свету, обеспечивается за счёт гидрофобных взаимодействий с липидными компонентами клеточных мембран, в результате чего состояние мембран стабилизируется; каратиноиды способны также ограничивать действие свободных радикалов, участвовать в формировании защищающих клетки биоплёнок, предотвращая окислительное повреждение участвующих в этом процессе макромолекул [José-Luis Barredo, 2012]. Аэрозоляты грибов, определенные как *Aureobasidium pullulans*, отличались продукцией и составом меланинов. Меланины относятся к фенольным ароматическим пигментам с высокой химической стабильностью в присутствии окислителей, при изменении температуры и pH среды [Усольцева, 2024]. Полученные в работе образцы меланина идентифицировали с применением реакции с KMnO_4 , H_2O_2 , FeCl_3 [Теплякова, 2013]. Спектр поглощения УФ и видимого света водными и щелочными растворами исследуемого пигмента представлен наклонной прямой, характерной для меланинов. Метаболиты грибов рода *Aureobasidium* широко используются в медицине и биотехнологии, но одновременно эти грибы являются патогеном, проявляющим все большее негативное влияние в клинической практике. Меланиногенез оценивается как фактор вирулентности грибов *Aureobasidium* [Багирова, 2018], обеспечивающий устойчивость грибковых клеток в состоянии стресса, способствующий их широкому распространению в разнообразных природных условиях и на искусственно созданных материалах, а также - проявлению в качестве аллергена и возбудителей инфекций в виде поверхностных и глубоких микозов. В соответствии с СанПин 3.3686-21 грибок *Aureobasidium pullulans*, наиболее часто выделяемый при микозах, отнесен к VI группе патогенности, как и грибы родов *Aspergillus* и *Cryptococcus*, идентифицированные в настоящей работе.

Среди непигментированных бактерий в исследуемых образцах аэрозолей значительно преобладали бактерии рода *Acinetobacter*, обладающие мощной полисахаридной капсулой, также способствующей выживанию в неблагоприятных условиях среды. Бактерии этого рода известны как сапротрофы, но и как патогены, внесенные в число шести наиболее опасных возбудителей клинических инфекций [Шмакова, 2019].

Заключение. В составе микроорганизмов, выделенных из образцов атмосферных аэрозолей, подверженных длительному горизонтальному переносу, обнаружено значительное количество бактерий и грибов, синтезирующих разнообразные пигменты, выполняющие стрессозащитную функцию, позволяющие сохранить жизнеспособность микробных клеток при длительном нахождении в составе атмосферных аэрозолей. Возможность присутствия в атмосферных аэрозолях патогенных грибов и бактерий с высокой концентрацией делает актуальным контроль состава и концентрации микробиома атмосферы в целях оценки опасности для экологии и здоровья населения.

Работа выполнена при поддержке Государственных заданий № 11/21 и 11/26 (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

Литература

- Багирова Н.С. Место *Aureobasidium pullulans* среди возбудителей оппортунистических инфекций человека (обзор литературы) // Лабораторная служба. 2018. Т. 7. № 2. С. 12-18.
- Теплякова Т.В., Пучкова Л.И., Косогова Т.А. и др. Противовирусное средство на основе меланина. 2013. Патент № 2480227 RU.

Усольцева О.Н., Потупчик Т.В., Полктова А.А. Меланины: функциональные свойства и возможности применения в медицинской практике // Фармация, 2024. № 6. С. 39-47 <https://doi.org/10.29296/25419218-2024-06-06>

Шмакова М.А. Бактерии рода *Acinetobacter* как внутрибольничные патогены. Эпидемиологические особенности // Фундаментальная и клиническая медицина. 2019. Т. 4. № 1. С. 66-72.

Andreeva IS, Safatov AS, Morozova VV, et al. The composition and concentration of the aerosols biogenic component taken during airborne sounding of the atmosphere over the Vasyugan marshes and Karakan pine forest at altitudes from 500 to 7000 m. Atmosphere. 2023;14(2):301. doi: 10.3390/atmos14020301

José-Luis Barredo (ed.), Microbial Carotenoids From Fungi: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 2012. V. 898, doi: 10.1007/978-1-61779-918-1_2, © Springer Science+Business Media New York 2012

РАЗНООБРАЗИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ И ИХ ПОТЕНЦИАЛ В ЗАЩИТЕ СОИ ОТ ЗАБОЛЕВАНИЙ

М.М. Астахов, А.Д. Язева, Н.С. Томашевич.

ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений», Краснодар

Первый коммерческий инокулянт Nitragin (1896) появился всего через несколько лет после открытия бактериальной природы клубеньков бобовых. Это один из самых ранних примеров внедрения фундаментального микробиологического открытия в сельскохозяйственную практику. Инокулянты на основе клубеньковых бактерий (ризобий) используются более 125 лет для обеспечения азотного питания бобовых культур и рассматриваются как экологически безопасная альтернатива либо дополнение к минеральным азотным удобрениям [Nobbe, Hiltner, 1896].

На сегодняшний день известен широкий спектр полезных свойств ризобий помимо биологической фиксации азота, включая повышение устойчивости растений к стрессовым почвенно-климатическим факторам, стимуляцию роста и развития растений и их защиту от заболеваний [Астахов, Томашевич, Асатунова, 2024]. Ризобии синтезируют ряд соединений, которые могут непосредственно ингибировать возбудителей заболеваний или запускать экспрессию защитных генов растения и индуцировать системную устойчивость посредством синтеза фитогормонов, а также стимуляции накопления фитоалексинов и защитных ферментов растения [Gopalakrishnan et al, 2015; Tonelli et al, 2020].

Цель работы заключается в изучении роли ризобий, выделенных на территории Краснодарского края, в биологической защите сои от фузариозного увядания (*Fusarium* sp.) и бактериального ожога (*Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*).

Клубеньковые бактерии выделяли в ранневесенний период в сосеющих районах Краснодарского края методом растений-ловушек [Ndhlovu et al, 2024]. Почвенные образцы отбирали на глубину 5–25 см, затем подготавливали и проводили посев семян сои сорта Ирбис. Растения выращивали в условиях климатической камеры до фазы цветения, после чего корневую систему отмывали, отбирали клубеньки вместе с фрагментами корневой системы, клубеньки стерилизовали гипохлоритом натрия и спиртом, промывали пятикратно стерильной водой и проводили изоляцию ризобий из активных клубеньков на YEMA с Конго красным. Устойчивость ризобий к кислотному и солевому стрессу оценивали по интенсивности роста культур на модифицированной среде YEMA в соответствии с параметрами: pH 4,0, 5,0, 6,0, а также 0 % и 7 % NaCl. Устойчивость ризобий к температурному стрессу оценивали при культивировании на 35, 40 и 45 °C. Засухоустойчивость оценивали по росту культур в жидкой среде YEM, содержащей 60 г/л ПЭГ-4000, с последующим измерением OD600.

Антагонистическую активность ризобий оценивали методом двойных культур на агаризованных средах: к возбудителю фузариоза сои *Fusarium sporotrichioides* на картофельно-глюкозной среде со встречной культурой, к возбудителю бактериального ожога *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* на мясо-пептонном агаре с модификацией диско-диффузионного метода (аналогично определению антибиотикочувствительности).

В результате было выделено более 20 штаммов ризобий, проведена морфолого-культуральная характеристика. В тестах на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам штамм pod18 сохранил жизнеспособность при pH = 4,0, и восемь штаммов устойчивы к pH = 5,0. Устойчивым к температуре 45 °C оказался штамм pod3, тогда как три штамма сохраняли рост при 40 °C. Все штаммы были устойчивы к засолению. При моделировании умеренного водного дефицита засухоустойчивость была подтверждена у 12 штаммов. Метод двойной культуры показал, что выделенные штаммы обладают некоторой антагонистической активностью к возбудителю фузариоза сои *Fusarium sporotrichioides* – ингибирование роста мицелия составило от 5 до 20 %, и к возбудителю бактериального ожога *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, где зона подавления составила 1–2 мм.

Секвенирование гена 16S рРНК и сравнение последовательности в базе NCBI подтвердили, что большинство выделенных культур были отнесены к виду *Bradyrhizobium japonicum*, по одному штамму — к видам *B. ottawaense* и *B. frederickii*. Кроме того, в клубеньках сои были обнаружены два штамма, идентифицированные как представители комплекса *Paenibacillus graminis* / *azotifigens*, и один штамм *Paenibacillus eucommiae*. На выделенные штаммы бактерий подготовлены паспорта для дальнейшего депонирования в биоресурсную коллекцию ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов».

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта № МПИ-25.1/13.

Литература

- Gopalakrishnan S, Sathya A, Vijayabharathi R, et al. Plant growth promoting rhizobia: challenges and opportunities. 3 Biotech. 2015;5:355-77. doi: 10.1007/s13205-014-0241-x.
- Ndhlovu, K.; Bopape, F.L.; Diale, M.O.; Mpai, T.; Morey, L.; Mtsweni, N.P.; Gerrano, A.S.; Vuuren, A.v.; Babalola, O.O.; Hassen, A.I. Characterization of Nodulation-Compatible Strains of Native Soil Rhizobia from the Rhizosphere of Soya Bean (*Glycine max* L.) Fields in South Africa. Nitrogen 2024, 5, 1107-1123. <https://doi.org/10.3390/nitrogen5040071>.
- Nobbe F., Hiltner L. Inoculation of the Soil for Cultivating Leguminous Plants : Patent US 570813A. Publ. 03.11.1896.
- Tonelli ML, Figueredo MS, Rodriguez J, et al. Induced systemic resistance-like responses elicited by rhizobia. Plant and Soil. 2020; 448:1-14. <https://doi.org/10.1007/s11104-020-04423-5>.
- Астахов М. М., Томашевич Н. С., Асатурова А. М. Биоконтрольные свойства ризобий в отношении вредных организмов: механизмы действия, спектр активности, эффективность (обзор) // Достижения науки и техники АПК. 2024. Т. 38. № 7. С. 4–21 https://10.53859/02352451_2024_38_7_4.

ОСОБЕННОСТИ КАТАЛИЗА МЕТИЛИРОВАНИЯ КОПРОПОРФИРИНА У *Mycobacterium smegmatis* ПРИ ПЕРЕХОДЕ В СОСТОЯНИЕ ПОКОЯ

Д.И. Багаева¹, Г.Р. Демина¹, И.С. Панина², Н.А. Крылов², М.Г. Хренова¹, М.О. Агафонов¹, А.П. Савицкий¹, Р.Г. Ефремов², А.С. Капрельяниц¹, М.О. Шлеева¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, bagaeva115@mail.ru

² Институт биоорганической химии им. Шемякина-Овчинникова РАН, Москва

Введение. В стрессовых условиях микобактерии способны переходить в покоящееся состояние, ключевыми характеристиками которого являются снижение метаболической активности, остановка клеточного деления и формирование фенотипической устойчивости к антибиотикам [Shleeveva, 2023]. Ранее нами было показано, что при переходе в это

состояние у *Mycobacterium smegmatis* происходит накопление порфиринов, в частности тетраметилового эфира копропорфирина III (ТМК), который может способствовать поддержанию гомеостаза или выполнять роль сигнальной молекулы [Nikitushkin, 2016]. Впоследствии мы идентифицировали ключевой фермент, ответственный за синтез ТМК – метилтрансферазу MSMEG_0614 (CPmtA) [Bagaeva, 2026].

Цель работы – исследование кинетических и молекулярных особенностей ферментативного метилирования копропорфирина (КП) у *M. smegmatis* при переходе клеток в покоящееся состояние для понимания фундаментальных механизмов адаптации бактерий.

Результаты. В ходе работы детально исследована новая метилтрансфераза, функциональная активность которой напрямую связана с перестройкой метаболизма тетрапирролов в условиях стресса. Биохимическая характеристика фермента выявила его широкую субстратную специфичность. Установлено, что CPmtA эффективно катализирует метилирование целого ряда порфириновых субстратов, включая копропорфирины III и I, протопорфирин IX, а также цинксодержащий копропорфирин I.

Кинетический анализ показал, что на начальных этапах реакции при низкой конверсии субстрата наблюдается лаг-фаза продолжительностью до 30 минут, в течение которой образование ТМК практически отсутствует. Это указывает на протекание реакции через образование промежуточных соединений. Детектирование моно- и диметилированных интермедиатов КП в первые 80 минут реакции подтверждает ступенчатый характер метилирования. При этом триметилированная форма КП в условиях эксперимента не накапливается, тогда как содержание ТМК неуклонно растет. Данный факт свидетельствует о том, что по мере увеличения числа метильных групп скорость последующих стадий метилирования возрастает, и триметилированный интермедиат, если и образуется, быстро превращается в конечный продукт.

На основе экспериментальных данных и молекулярно-динамического моделирования предложен уникальный «карусельный» механизм функционирования активного центра CPmtA. В отличие от классического диссоциативного механизма, при котором промежуточные продукты покидают фермент, в гидрофобном кармане CPmtA происходит последовательное чередование ориентации молекулы КП. Это позволяет ферменту метилировать карбоксильные группы одну за другой без полной диссоциации интермедиатов из каталитического центра, что оптимизирует скорость адаптивного ответа в условиях энергетического дефицита. Предсказанный с помощью моделирования каталитический механизм был подтверждён экспериментально с использованием мутантных форм фермента. Дополнительно показано, что в ходе «карусельного» цикла на поверхности белка формируется гидрофобный участок, который может облегчать взаимодействие CPmtA с мембраной. Таким образом, «карусельный» механизм обеспечивает высокую эффективность синтеза ТМК, предотвращает потерю интермедиатов и сопряжён с адаптивными изменениями свойств фермента.

Выводы. Метилтрансфераза CPmtA является ключевым ферментом адаптивного метаболизма микобактерий, катализирующим многостадийное превращение КП в ТМК по уникальному «карусельному» механизму. Этот процесс представляет собой ранее неизвестный тип модификации порфиринов, имеющий прямое отношение к формированию покоящегося состояния. Описанные молекулярные и кинетические особенности CPmtA открывают перспективы для направленного поиска ингибиторов данного фермента с целью предотвращения развития лекарственно-устойчивых «спящих» форм микобактерий.

Работа выполнена при поддержке РНФ (грант № 24-15-00221).

Литература.

Bagaeva, D.I., Demina, G.R., Panina, I.S., Krylov, N.A., Khrenova, M.G., Agaphonov, M.O., Savitsky, A.P., Efremov, R.G., Kaprelyants, A.S., Shleeve, M.O. Methyltransferase CPmtA drives dormancy-associated synthesis of coproporphyrin III tetramethyl ether via a "carousel" mechanism in *Mycobacterium smegmatis* // International journal of biological macromolecules. 2026. Vol. 358. 151714.

Nikitushkin, V.D., Shleeва, M.O., Zinin, A.I., Trutneva, K.A., Ostrovsky, D.N., Kaprelyants, A.S. The main pigment of the dormant *Mycobacterium smegmatis* is porphyrin // FEMS microbiology letters. 2016. Vol. 363 (19). fnw206.

Shleeва, M.O., Kaprelyants, A. S. Hypobiosis of Mycobacteria: Biochemical Aspects // Biochemistry (Moscow). 2023. Vol. 88 (Suppl 1), P. S52–S74.

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ИЗБЫТОЧНОСТИ МИКРОБИОТЫ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА ПРИМЕРЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ПУТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА

А.И.Белоусов¹, Н.А.Попова¹
¹ИЦиГ СО РАН, ai_belousov@mail.ru

Патологические нарушения таксономического разнообразия микробиоты описаны в литературе. [Lloyd-Price, 2019; Villette, 2025]. При устойчивом (хроническом) дисбиозе происходит глубокая перестройка метаболических развилочек, полностью меняя путь метаболизма в рамках потока вещества. [Meawad, 2025] Примерами стабильного дисбиоза являются сдвиги метаболизма аминокислот, нарушения путей синтеза КЦЖК и нарушения реабсорбции желчных кислот. [Wang, 2026]

Цель исследования - дать количественную оценку функциональной избыточности микробиоты кишечника человека на основе транскрипционной активности видового разнообразия в полногеномном исследовании.

В работе использовались 14 пар образцов РНК и ДНК (соответствующих друг другу) полногеномного секвенирования из репозитория NCBI (программа по микробиому человека iHMP / HMP2). Для аннотации последовательностей ДНК и РНК использовали инструментариий DIAMOND (UniRef90) в режиме blastx, а также MetaPhlAn 4 (Bowtie2).

Аннотация образцов содержит функцию гена КО (ортологи Киотской классификации), таксономическую принадлежность и соответствующую копияность (CPM - counts per million). В результате расчетов получены следующие показатели:

- **индекс Симпсона** - степень централизации - велико ли количество доминирующих видов, обладающих данной ферментативной функцией (данным геном).
- **индекс метаболической хрупкости** - доля лидирующего таксона в общем показателе копияности.
- **индекс функциональной децентрализации Шеннона** - чем выше показатель, тем равномернее распределение генов среди всех таксонов, обладающих данным КО.

Показатели отдельно посчитаны для таких групп генов как: основные гены домашнего хозяйства (трансляции и энергетического метаболизма), гены стрессового ответа (вирулентности, антиоксидантной защиты, транспорта железа, устойчивости к антибиотикам, защиты от профагов) и гены адаптации и вторичного метаболизма (синтеза эндотоксинов, биопленок, метаболизма клетчатки, КЦЖК, деградации муцина, метаболизма витаминов Б)

Табл.1 Функциональные показатели генов резистентности к антибиотикам

	Хрупко сть ДНК	Хрупко сть РНК	Симпс он ДНК	Симпс он РНК	Шенно н ДНК	Шенно н РНК
Язвенный колит	27.3%	38.2%	14.4%	19.7%	2.42	2.00
Болезнь Крона	22.6%	21.8%	12.1%	11.7%	2.59	2.40
Здоровый контроль	23.8%	33.5%	9.2%	16.2%	2.91	2.27

У пациентов с болезнью Крона активность систем защиты от антибиотиков равномерно распределена по всему бактериальному сообществу. Такой вывод можно сделать, поскольку все три индекса здесь находятся на одном уровне, учитывая показатели для РНК и для ДНК. У групп здорового контроля и язвенного колита ДНК генов в образце обнаружена для многих таксонов, однако активность экспрессии зафиксирована для меньшего видового разнообразия.

Табл.2 Функциональные показатели некоторых генов метаболического гомеостаза

	<i>Хрупкость ДНК</i>	<i>Хрупкость РНК</i>	<i>Симпсон ДНК</i>	<i>Симпсон РНК</i>	<i>Шеннон ДНК</i>	<i>Шеннон РНК</i>
Язвенный колит <i>энергетич. метаболизм</i>	28.8%	50.2%	15.0%	30.2%	2.34	1.70
Болезнь Крона <i>энергетич. метаболизм</i>	20.4%	20.4%	11.5%	13.0%	2.59	2.35
Здоровый контроль <i>энергетич. метаболизм</i>	23.6%	22.6%	9.2%	10.0%	2.93	2.65
Язвенный колит <i>оксидативн. ответ</i>	38.9%	78.1%	23.5%	62.4%	1.77	0.83
Болезнь Крона <i>оксидативн. ответ</i>	25.0%	30.5%	15.5%	21.1%	2.07	1.81
Здоровый контроль <i>оксидативн. ответ</i>	24.5%	34.3%	13.7%	21.0%	2.28	1.85

У пациентов с диагнозом «язвенный колит» индекс хрупкости РНК для генов энергетического метаболизма увеличен до 50,2%, при сравнении с группами «контроль» и «болезнь Крона». В то же время падает индекс Шеннона - с 2.34 до 1.7, а индекс Симпсона повышен до 30,2%. Похожую ситуацию можно наблюдать, также, на примере генов оксидативного обмена пациентов - у пациентов с диагнозом «язвенный колит» индекс хрупкости РНК составляет 78.1%, индекс Шеннона упал с 1.77 до 0.83, а значение индекса Симпсона возросло до 62.4%.

Можно предположить, что при язвенном колите функцию противодействия защитным силам организма-хозяина выполняют в основном отдельные виды бактерий, у которых повышенная экспрессия соответствующих генов.

Полученные данные позволяют дополнить концепцию снижения видового разнообразия микробиома при дисбиозах сведениями о внутренней структуре сообщества микроорганизмов и механизмах бактериальной адаптации.

Литература

Lloyd-Price J *et al.* Multi-omics of the gut microbial ecosystem in inflammatory bowel diseases. *Nature* (2019)

Meawad M, Singh D, Deng A, Sonthalia R, Cai E, Dumeaux V. Functional archetypes in the human gut microbiome reveal metabolic diversity, stability, and influence disease-associated signatures. *Microbiome* (2025).

Villette, R. *et al.* Human gut microbiome gene co-expression network reveals a loss in taxonomic and functional diversity in Parkinson's disease. *npj Biofilms Microbiomes* (2025).

Wang Y, Huang B, Wei X, Guan Y, Li L, Zheng Y, Sun W. Gut microbiota metabolic reprogramming drives the development of metabolic diseases in the host. *Gut Microbes* (2026).

УЛЬТРАМИКРОБАКТЕРИИ ОЗЕРА БАЙКАЛ

О.И. Белых, А.Ю. Краснопеев, С.А. Потапов, Д.И. Гутник, Е.Г. Сороковикова,
И.В. Тихонова

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

Ультрамикробактерии (УМБ) – бактерии с диаметром клеток менее 0,3 мкм, объемом менее 0,1 мкм³ и размером генома от 0,58 до 3,2 Мб – широко распространены в олиготрофных водных экосистемах, где благодаря высокому соотношению поверхности к объему наиболее эффективно поглощают питательные вещества и доминируют по численности. В Байкале – крупнейшем олиготрофном и древнем озере – ультрамикробактерии ранее не были предметом целенаправленных геномных исследований. Цель настоящей работы – реконструкция и описание полных геномов УМБ из метагеномной фракции планктона размером менее 0,2 мкм с использованием высокопроизводительного секвенирования и биоинформатического анализа.

Пробы воды отобраны в разные сезоны на восьми станциях в пелагиали и литорали оз. Байкал. На каждой станции из слоя 0–50 м отбирали интегральную пробу (20 л), которую последовательно фильтровали через фильтры 0,4 и 0,2 мкм. Фильтрат концентрировали ультрафильтрацией (50 кДа). Выделенную ДНК секвенировали на Illumina MiSeq. Сборку геномов осуществляли в MEGANIT, биннинг – в MetaBAT2 с последующей проверкой в CheckM, таксономическую классификацию – в GTDB-Tk (база данных R207).

В результате анализа собрано 95 геномов с полнотой от 47% до 100%. Из них 17 геномов имели размер более 3,2 Мб и не были отнесены к УМБ. Остальные 78 геномов соответствовали критериям УМБ по размеру генома. Доминирующими филумами среди УМБ оказались Actinomycetota (38 геномов), Pseudomonadota (22 генома) и Bacteroidota (18 геномов). В меньшем количестве присутствовали Bacillota, Cyanobacteriota, Chloroflexota, Patescibacteriota, Verrucomicrobiota, Campylobacterota, Mycoplasmatota, Spirochaetota, Fusobacteria, Planctomycetota, Thermodesulfobacteriota. Наибольшее таксономическое разнообразие УМБ отмечено в марте в Южном Байкале и в сентябре в Северном Байкале.

Среди Actinomycetota доминировал порядок Nanopelagicales (27 геномов), который включал культивируемые роды *Nanopelagicus* и *Planktophilia*, а также некультивируемые линии UBA5976, UBA3012, UBA7398. Размер геномов этих бактерий варьировал от 1,01 до 1,44 Мб. Байкальские *Planktophilia* оказались близкими родственниками штаммов из водоемов Европы (сходство 81–96%), а также из оз. Бива (92–94%). *Planktophilia* BIN_65 на 95,5% сходна с *P. dulcis* из Цюрихского озера (объем клетки 0,018–0,023 мкм³). Представители Nanopelagicales ранее были известны как клады acI/ACK-M1/hgcI. Они характеризуются небольшими размерами клеток, редуцированными геномами, множественной ауксотрофией, потребностью в соединениях серы, содержат актинородопсин и ведут фотогетеротрофный образ жизни. Nanopelagicales обитают преимущественно в эпилимнионе, их сезонная динамика положительно коррелирует с цветением фитопланктона и пикоцианобактерий.

Второй по представленности порядок актинобактерий – Acidimicrobiales (11 геномов) – включал семейства Plumatobacteraceae (UBA3006, BACL27 с размерами генома 1,56–1,86 Мб) и Microbacteriaceae (*Alpinimonas*, *Rhodoluna*, *Mycetocola*, *Rathayibacter*, *Rhodoglobus*). Размер генома *Rhodoluna* BIN_4 – 1,4 Мб; типовой вид *R. laticola* характеризуется красной пигментацией клеток и аэробным хемоорганогетеротрофным ростом. *Alpinimonas* BIN_40 и BIN_58 родственны психрофильным бактериям, выделенным из альпийского ледника. У родов *Mycetocola*, *Rathayibacter*, *Rhodoglobus* размер генома немного превышал 3,2 Мб.

УМБ филума Pseudomonadota были представлены исключительно гаммапротеобактериями порядка Burkholderiales. Наиболее многочисленным оказался

род *Polynucleobacter* (геномы размером от 1,44 до 2,17 Мб). Байкальские *Polynucleobacter* сходны с геномами из озера Севан (*P. difficilis*), альпийских озер, р. Янцзы. *Polynucleobacter* – преимущественно свободноживущие планктонные бактерии, но отдельные виды являются облигатными эндосимбионтами инфузорий. Они утилизируют уксусную, пировиноградную, янтарную кислоты. Среди других гаммапротеобактерий восстановлены геномы *Methylothermus* (1,5–1,6 Мб) – метилотрофных бактерий, играющих важную роль в круговороте одноуглеродных соединений; *Limnhabitans* (до 3,1 Мб) – хемоорганогетеротрофов из олигомезотрофных озер, потребляющих РОВ фитопланктона; *Polaromonas* (2,26–2,77 Мб) – психрофильных хемоорганогетеротрофов, способных окислять водород, арсенит и широкий спектр органических загрязнителей. Род *Hylemonella* представлен двумя геномами; типовой вид *H. gracilis* был выделен из прудовой воды фильтрованием через поры 0,1 мкм, он хорошо растет совместно с почвенными бактериями.

Bacteroidota (18 геномов) отнесены к классу Bacteroidia. Среди порядков Chitinophagales выделяется вид *Sediminibacterium* (размер генома 1,5–2,3 Мб) – хемоорганогетеротрофы, способные к мутуалистическим/комменсальным отношениям с цианобактериями. Порядок Cytophagales представлен геномами *Aquirufa* – это широко распространенные пресноводные бактерии с красной пигментацией, содержащие гены синтеза родопсина. Виды *Aquirufa* растут хемоорганогетеротрофно и способны усваивать пектин. Порядок Flavobacteriales включал геном (2,0 Мб), близкородственный *Flavobacterium* из водоемов США, на древе они образовали отдельный кластер. Порядок Sphingobacteriales – некультивируемые семейства CAIKLP01 (CAJBVG01, JAEYZM01) с геномами 2,2–2,5 Мб, наиболее сходные с изолятами из озера Невшатель (Швейцария) и микробиома кишечника человека. Некультивируемые порядки AKYN767 и NS11-12g содержали роды UBA2475, UBA6183 с геномами 2,2–3,4 Мб.

Среди Chloroflexota обнаружены два генома рода *Limnocyclus* (линия SL56) размером 0,9–1,0 Мб – гетеротрофные бактерии, глобально распространенные в эпилимнионе пресных озер. Культивируемые представители отсутствуют; анализ геномов указывает на возможный паразитический образ жизни.

Филум Patescibacteriota (класс Saccharimonadia) представлен самыми маленькими геномами – 0,59–0,65 Мб (полнота сборки 80–98%). Байкальские последовательности наиболее родственны изолятам CALRAY01 из озера Милада (98%), CAJAXB01 из водохранилища Ржимов (92%) (Чехия), CAILAD01 (71% – почва Антарктики). Saccharimonadia имеют сильно редуцированные геномы, в которых отсутствуют гены биосинтеза большинства аминокислот, нуклеотидов, жирных кислот и кофакторов, что предполагает симбиотический или паразитический образ жизни. У них не найдены гены цикла трикарбоновых кислот (за исключением сукцинил-КоА синтетазы у некоторых видов), но присутствуют ферменты для деградации углеводов (альфа-амилаза, глюкоамилаза, трегалаза, бета-глюкозидаза), что указывает на ферментативный метаболизм.

Восстановленные геномы филума Verrucomicrobiota отнесены к порядку Methyloacidiphilales (UBA3015). Их размер составил 1,8–2,2 Мб. Возможно, бактерии являются аэробными метанотрофами, что имеет особое значение для Байкала как естественного источника метана. Установлено, что аэробная метанотрофия ранее считалась ограниченной протеобактериями, но в последние годы доказана также у Verrucomicrobiota, Gemmatimonadota и Actinomycetota.

Таким образом, в результате метагеномного анализа фракции планктона размером менее 0,2 мкм из озера Байкал реконструировано 78 геномов ультрамикробактерий. Показано, что среди УМБ преобладают фотогетеротрофные актинобактерии порядка Nanopelagicales и хемоорганогетеротрофные гаммапротеобактерии рода *Polynucleobacter*. Выявлены бактерии с экстремально малыми геномами (Patescibacteriota, 0,59 Мб), что характерно для симбиотических или паразитических форм. Обнаружены потенциальные

метанотрофы среди Verrucomicrobiota, что открывает новые перспективы для изучения биогеохимических циклов углерода в глубоководном озере. Наличие геномов *Polaromonas* с известной способностью к деградации хлорированных органических загрязнителей указывает на возможный потенциал байкальских УМБ в биоремедиации. Полученные результаты существенно расширяют представления о разнообразии и функциональных стратегиях ультрамелких бактерий в экосистеме глубочайшего олиготрофного озера мира.

Работа выполнена в рамках государственного задания Лимнологического института СО РАН (проект № 1023032700318-2-1.6.2).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МНОЖЕСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ БАКТЕРИИ *ACHROMOBACTER INSOLITUS* LCu2

Г.Л. Бuryгин*, Ю.А. Балабанова

Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр РАН» (ИБФРМ РАН), пр-кт Энтузиастов, 13, г. Саратов, Россия, 410049

*burygingl@gmail.com

В связи с массовым применением антибиотиков в медицине и ветеринарии в различных природных экосистемах появляется большое количество бактерий, устойчивых к антибиотикам. Наибольшее практическое значение из них имеют так называемые бактерии с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), которые всё чаще становятся причиной внутрибольничных инфекций, связанных с их резистентностью к широкому кругу современных применяемых антибиотиков и ослабленным иммунитетом пациентов на фоне антибиотикотерапии [Parmanik et al., 2022]. Загрязнение окружающей среды тяжёлыми металлами дополнительно способствует распространению таких штаммов.

Молекулярным механизмом формирования у бактерий МЛУ является функционирование разнообразных систем эффлюкса токсикантов, каждая из которых относительно неспецифично может выводить из клетки несколько разных токсикантов. Среди описанных на сегодняшний день эффлюксных систем особую роль играют RND-транспортеры (Resistance-Nodulation-Division), обеспечивающие устойчивость к широкому спектру соединений, включая антибиотики, детергенты и тяжелые металлы [Colclough et al., 2020].

В качестве объекта исследования в данной работе был использован ризосферный штамм *Achromobacter insolitus* LCu2, выделенный из ризосферы люцерны (*Medicago sativa* L.), демонстрирующий устойчивость к широкому спектру токсичных веществ. Геном этого штамма был секвенирован и депонирован в GenBank (accession number CP038034.1) [Kryuchkova et al., 2024].

Целью исследования является анализ генетических основ резистентности штамма LCu2 к тяжелым металлам и антибиотикам, а также оценка экспрессии генов RND-эффлюксных систем в условиях токсической нагрузки.

Для данного штамма показана устойчивость к высоким концентрациям катионов меди, кадмия, свинца, цинка, хрома, кобальта, никеля [Burygin et al., 2025] и широкому спектру антибиотиков. В ходе анализа генома было идентифицировано 9 генных кластеров, кодирующих белки RND-систем эффлюкса различных типов (AxyXY-OprZ, MexAB-OprM, MexCD-OprM, MexVW-TolC, MexKJ-OprM, CusAB-TolC и MdtABC-TolC).

Для оценки функциональной активности данных систем были подобраны специфичные праймеры к генам внешних мембранных каналов (*tolC*, *oprM* и *oprZ*) и генам «домашнего хозяйства» (*gyrB*, *lepA*, *nusA*, *rpoB*), предложенных ранее для бактерий рода

Achromobacter [Spilker et al., 2012]. Уровень экспрессии генов оценивали методом ПЦР в реальном времени с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green.

Участие систем эффлюкса в устойчивости штамма LCu2 к токсикантам оценивали с помощью нанокластеров серебра (GSH-AgNCs) как ингибиторов эффлюкса, обладающих низкой токсичностью. Обнаружено, что GSH-AgNCs повышают чувствительность бактерий к солям тяжёлых металлов и антибиотикам. Наибольший эффект отмечен в отношении меди: при совместном действии GSH-AgNCs и Cu^{2+} рост *A. insolitus* LCu2 полностью ингибировался при таких концентрациях меди, при которых без GSH-AgNCs бактериальный рост не отличался от контроля.

Полученные данные свидетельствуют, что устойчивость LCu2 связана с активностью RND-эффлюксных систем, обеспечивающих активное выведение вредных соединений из клетки. Выявленные особенности делают штамм перспективным объектом для дальнейших исследований, направленных на разработку решений в области биоремедиации и контроля бактерий с МЛУ.

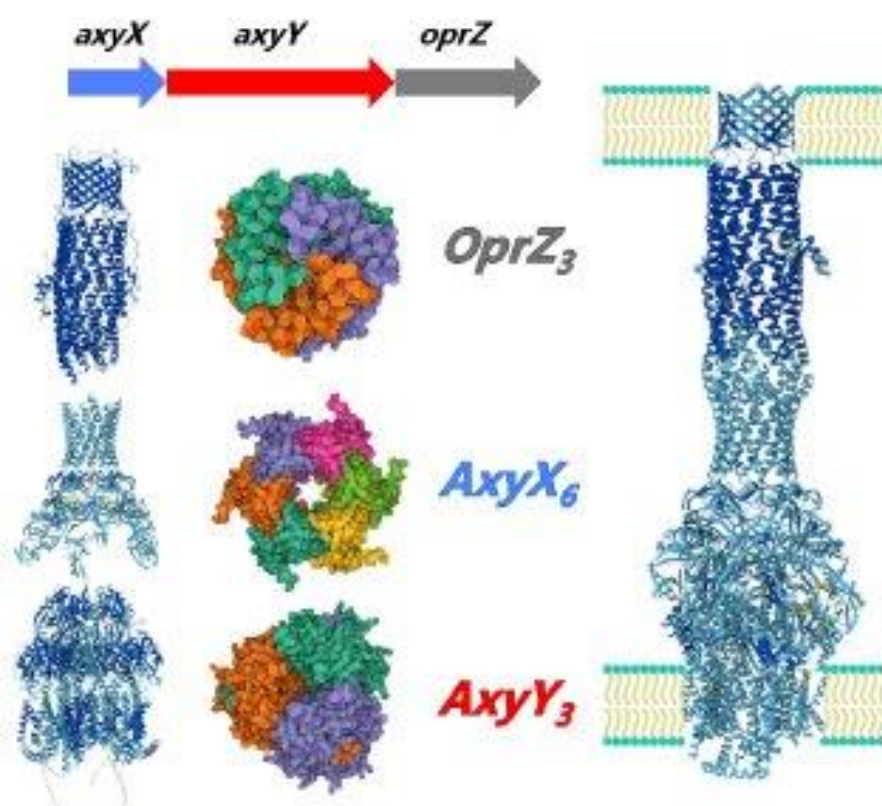


Рисунок 1. Пример системы эффлюкса RND-типа штамма *Achromobacter insolitus* LCu2. Результаты 3D-моделирования надмолекулярных комплексов тримеров белка AxuY, гексамеров белка AxuX, тримеров белка OprZ и полного комплекса RND-системы эффлюкса AxuY₃-AxuX₆-OprZ₃, являющихся продуктами генного кластера *axuXY-oprZ*.

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

Литература

Burygin GL, Astankova AS, Chumakov DS et al. Effect of silver nanoclusters on the copper resistance of *Achromobacter insolitus* LCu2 // Microbiology. 2025. 94(2). 299-301. doi: 10.1134/S002626172460993X

Colclough AL, Alav I, Whittle EE et al. RND efflux pumps in Gram-negative bacteria; regulation, structure and role in antibiotic resistance // Future Microbiology. 2020. 15. 143-157. doi: 10.2217/fmb-2019-0235

Kryuchkova YV, Neshko AA, Gogoleva NE et al. Genomics and taxonomy of the glyphosate-degrading, copper-tolerant rhizospheric bacterium *Achromobacter insolitus* LCu2 // Antonie van Leeuwenhoek. 2024. 117. 105. doi: 10.1007/s10482-024-01989-3

Parmanik A, Das S, Kar B et al. Current treatment strategies against multidrug-resistant bacteria: a review // Curr Microbiol. 2022. 79(12). 388. doi: 10.1007/s00284-022-03061-7

Spilker T., Vandamme P., LiPuma J.J. A multilocus sequence typing scheme implies population structure and reveals several putative novel *Achromobacter* species // J. Clin. Microbiol. 2012. V. 50. P. 3010-3015. <https://doi.org/10.1128/jcm.00814-12>

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЧИСЛЕННОСТИ АКТИНОМИЦЕТОВ В ПРОФИЛЕ СЕВООБОРОТНОЙ И ЗАЛЕЖНОЙ ПОЧВ

Р.С. Гамзаева

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, г. Пушкин,
r.gamzaeva@yandex.ru

Введение. Актиномицеты – ключевая группа почвенных микроорганизмов, участвующих в разложении устойчивых органических соединений, подавлении фитопатогенов и формировании почвенной структуры [1]. Их численность и распределение по профилю чувствительны к типу землепользования. Сравнительное изучение актиномицетов в генетических горизонтах севооборотной и залежной почв позволяет оценить влияние антропогенного фактора на биологическую активность [2].

Цель работы – провести сравнительный анализ численности актиномицетов в горизонтах Апах, В и С севооборотной и залежной дерново-подзолистой почвы.

Материалы и методы. Образцы почв отобраны в 2025 году из двух разрезов на смежных участках: поле в активном севообороте и долгосрочная залежь (>10 лет). Почва – дерново-подзолистая среднесуглинистая. Горизонты: Апах (0–20 см), В (20–40 см), С (40–60 см). Агрохимический анализ горизонта Апах показал: в севооборотной почве рН 6,47, гумус 3,30%, подвижный фосфор (P₂O₅) 148,8 мг/кг, обменный калий (K₂O) 125 мг/кг; в залежной почве рН 6,79, гумус 4,30%, P₂O₅ 99,4 мг/кг, K₂O 41,5 мг/кг. Численность актиномицетов определяли методом посева на крахмало-аммиачный агар (КАА), инкубация при 28°C в течение 7–10 суток [3].

Результаты. Численность актиномицетов в исследуемых горизонтах представлена в таблице.

Таблица. **Численность актиномицетов в севооборотной и залежной почвах, тыс. КОЕ/г**

Горизонт	Севооборотная почва	Залежная почва
Апах	208	128
В	144	76
С	40	56

*Примечание: НСР₀₅ для сравнения показателей в горизонтах Апах, В и С составила соответственно 22, 16 и 8 тыс. КОЕ/г.

В пахотном и иллювиальном горизонтах севооборотной почвы численность актиномицетов достоверно выше, чем в залежной: 208 и 144 тыс. КОЕ/г против 128 и 76 тыс. КОЕ/г соответственно. В материнской породе (горизонт С) севооборотной почвы количество актиномицетов снижается до 40 тыс. КОЕ/г, что ниже, чем в залежной (56). Повышенная численность в верхних слоях севооборотной почвы связана с регулярным поступлением корневых остатков и механической обработкой.

Более высокая численность актиномицетов в верхних горизонтах севооборотной почвы (208 и 144 тыс. КОЕ/г) обусловлена не только поступлением свежей органики, но и благоприятной реакцией среды (рН 6,47). В залежной почве, несмотря на более высокое содержание гумуса (4,30%), численность актиномицетов ниже (128 и 76 тыс. КОЕ/г), что может свидетельствовать о переходе сообщества в равновесное состояние с преобладанием олиготрофных форм. Полученные данные согласуются с исследованиями [4], показавшими, что агрогенное использование стимулирует активность актиномицетов в пахотных горизонтах, но снижает их разнообразие в глубоких слоях.

Выводы

1. В пахотном (Апах) и иллювиальном (В) горизонтах севооборотной почвы численность актиномицетов достоверно выше, чем в залежной: 208 и 144 тыс. КОЕ/г против 128 и 76 тыс. КОЕ/г. Это связано с регулярным поступлением свежих органических остатков и механической обработкой.
2. В материнской породе (горизонт С) севооборотной почвы количество актиномицетов снижается до 40 тыс. КОЕ/г, что ниже показателя залежной почвы (56 тыс. КОЕ/г). Таким образом, в глубоких слоях агрогенной почвы микробная активность падает сильнее, чем в залежи.
3. Залежная почва демонстрирует равномерное снижение численности актиномицетов с глубиной (128 → 76 → 56), отражающее естественное распределение органического вещества и отсутствие интенсивного антропогенного воздействия. Длительное сельскохозяйственное использование поддерживает высокую численность актиномицетов только в верхних горизонтах, тогда как залежь формирует более сбалансированный профиль.

Литература

- Казеев К.Ш., Колесников С.И., Вальков В.Ф. Биологическая диагностика и индикация почв: методология и методы исследований. — Ростов н/Д: Изд-во РГУ, 2003. — 216 с.
- Лысак Л.В. Микробные сообщества постагрогенных почв: сукцессия и восстановление // Журнал общей биологии. 2020. Т. 81. № 5. С. 380–395.
- Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во МГУ, 1991.
- Завьялова Н.Е., Широких И.Г., Васбиева М.Т. и др. Влияние различных типов землепользования на прокариотные сообщества дерново-подзолистой почвы // Почвоведение. 2021. № 2. С. 232–239.

СКРИНИНГ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ПРОЦЕССАХ БИОЛОГИЧЕСКОГО ЗАРАЖЕНИЯ БАЗАЛЬНОПЛАСТИКОВЫХ МАТЕРИАЛОВ В УСЛОВИЯХ ОТКРЫТЫХ ПОЛИГОНОВ КЛИМАТИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ В Г. ЯКУТСК

**А.Л. Герасимчук¹, Л.Б. Глухова², А.Н. Сысоева³, Л.А. Ерофеевская⁴, Ю.А. Франк⁵,
Е.С. Марченко⁶**

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, gerasimchuk_ann@mail.ru

² Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, glb122@yandex.ru

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, nastena.sysoeva.97@bk.ru

⁴ Институт проблем нефти и газа ОП ФИЦ ЯНЦ СО РАН, Якутск, lora-07.65@mail.ru

⁵ Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск, yulia.a.frank@gmail.com

Полимерные композиционные материалы (ПКМ), включая базальтопластики, широко применяются в технике и строительстве благодаря их высоким прочностным и эксплуатационным характеристикам [Bukvić et al., 2025]. Однако долговечность таких материалов существенно снижается при воздействии комплекса абиотических и биотических факторов окружающей среды [Brebu, 2020]. Изучение микробной контаминации и биодеструкции ПКМ представляет собой актуальную задачу, поскольку микроорганизмы способны значительно снижать долговечность и эксплуатационные характеристики базальтопластиков и других ПКМ.

Цель исследования - оценить численность и культивируемое разнообразие бактерий и микромицетов на образцах базальтопластиковых материалов (БПМ), экспонируемых в условиях открытых полигонов климатических испытаний «Якутск» и «Спаская Падь» в г. Якутск. Стенды с образцами БПМ, расположенные на территории полигона «Якутск», помимо абиотических воздействий подвергались однократному провокационному биозаражению в ноябре 2024 года представителями *Bacillus atrophaeus* и *Aspergillus niger*, выделенными ранее с поверхности базальтопластиковых конструкций и, предположительно, влияющими на процессы биодеструкции [Erofeevskaya et al., 2020]. Объектом исследования были смывы с БПМ с территории полигонов, отобранные в августе 2025 года. Определение численности микроорганизмов в образцах смывов проводили с помощью подсчета колоний, полученных из разведений на плотных питательных средах, таких как агаризованный ГРМ-бульон, а также Чапека-Докса и Сабуро. Инкубировали посеvy при следующих вариантах температур: +4 °C, +25 °C (для микромицетов), +28 °C, +37 °C. Для получения чистых культур отбирали морфологически отличающиеся колонии, переносили на свежую среду и культивировали при соответствующей температуре. Для стабильно растущих изолятов проводили молекулярно-биологический анализ региона ITS или фрагмента гена 16S рРНК.

В результате выявлены отличия в численности и составе микроорганизмов с разных участков экспериментального экспонирования образцов БПМ. Смывы с образцов БПМ «Спаская Падь» характеризовались меньшей численностью микроорганизмов и не содержали психротолерантных форм. Выявленное число микромицетов не превышало 67 КОЕ/мл при температурах 25-28 °C и 3-7 КОЕ/мл при 37 °C. Среднеарифметическая численность бактерий в пробах смывов «Спаская Падь» при температурах 28 °C и 37 °C варьировала в пределах одного порядка, от 4×10^2 КОЕ/мл до 4×10^3 КОЕ/мл. Наблюдали преобладание крупных колоний неправильной формы с выступающим складчатым рельефом и пигментом от светлого до темно-коричневого (Рис. 1А). Похожие морфотипы выявлены и в смывах из полигона «Якутск» при тех же температурах, однако численность и морфологическое разнообразие бактерий, и микромицетов значительно отличались. Во всех исследованных смывах с территории полигона «Якутск» культивированные бактерии и микромицеты представлены большей частью мезофильными и психротолерантными формами. Максимальные показатели численности бактерий составили $2,4 \times 10^6$ КОЕ/мл при 4 °C, $2,5 \times 10^7$ КОЕ/мл при 28 °C и 3×10^5 КОЕ/мл при 37 °C, микромицетов - $4,3 \times 10^2$ КОЕ/мл при 4 °C, $3,0 \times 10^4$ КОЕ/мл при 25 °C и 28 °C и $2,6 \times 10^2$ КОЕ/мл при 37 °C.

Из образцов смывного материала в чистую культуру выделены 24 бактериальных изолята и 65 изолятов плесневых грибов и дрожжей. Большая часть изолятов идентифицирована с помощью молекулярных методов. Представители *Bacillus atrophaeus* оказались доминирующей или значимой частью культивируемой бактериальной

составляющей во всех исследованных смывах, включая те, которые не подвергались провокационному биозаражению. Помимо представителей *Bacillota* в смывах зараженных стенов с БПМ присутствовали некоторые представители актиномицетов, которых ранее также обнаруживали в составе контаминирующей БПМ микрофлоры [Ерофеевская и др., 2022]. Разнообразие обнаруженных микромицетов отличалось в смывах с разных полигонов. Следует отметить, что присутствие микроорганизмов, близкородственных *Aspergillus* sp., выявлено только в смывах с «чистых» образцов БПМ (Рис. 1Б). На данном этапе исследований представители *Aspergillus niger*, участвующие в заражении, не обнаружены на стендах, экспонируемых на полигоне «Якутск», однако выявлено присутствие других микромицетов, которые могут оказывать влияние на свойства полимерных материалов, а именно представители *Alternaria* sp. *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp. [Erofeevskaya et al., 2020].

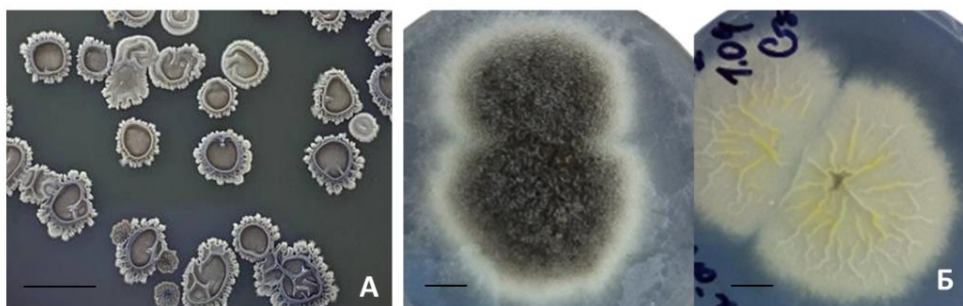


Рисунок 1 – Примеры колоний *Bacillus atrophaeus* (А) и *Aspergillus* sp. (Б). Линейка 1 см

Полученные результаты подтверждают значимость выявленных микроорганизмов в контаминации БПМ и свидетельствуют об их выживаемости в условиях холодного климата.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-69-00009, <https://rscf.ru/project/25-69-00009/>

Литература

Ерофеевская Л.А., Кычкин А.К., Кычкин А.А., Лебедев М.П. Исследование биологического воздействия на базальтопластиковую арматуру // Природные ресурсы Арктики и Субарктики. 2022. Т. 27(1). С. 152-166.

Erofeevskaya L.A., Aleksandrov A.R., Kychkin A.K. Prospects for the use of spore-forming bacteria to combat the destruction of polymeric composite materials // IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. 2020. Vol. 753. P. 052010.

Brebu M. Environmental degradation of plastic composites with natural fillers – A Review // Polymers. 2020. Vol. 12(1). P. 166.

Bukvić M., Milojević S., Gajević S., Đorđević M., and Stojanović B. Production technologies and application of polymer composites in engineering: A Review // Polymers. 2025. Vol. 17(16). P. 2187.

ВЛИЯНИЕ НАНОКОМПОЗИТОВ СЕЛЕНА И АРАБИНОГАЛАКТАНА НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МЕМБРАНЫ БАКТЕРИИ *CLAVIBACTER SEPEDONICUS*

И. А. Граскова, И. М. Романова, А. И. Перфильева, Б. Г. Сухов
СИФИБР СО РАН, Иркутск, Россия
graskova@sifibr.irk.ru

Фитопатогенная бактерия *Clavibacter sepedonicus* (*Cms*) вызывает кольцевую гниль картофеля. В настоящее время отсутствуют эффективные агенты для регуляции численности этой бактерии, как и методов их уничтожения. В качестве потенциальных агентов для оздоровления картофеля от *Cms* ранее были исследованы нанокompозиты селена (НК Se/Ag), представляющие собой композицию токсичных наночастиц (НЧ) селена, плотно запакованных в матрицу из природного полисахарида – арабиногалактана (Ag). НК Se/Ag не наносит вред растениям. Под влиянием бактериальных экзоферментов полисахарид в составе НК способен распадаться с высвобождением токсичных наночастиц Se. Выявлено ингибирование роста *Cms*, уменьшение их колониеобразующих единиц, показано, что НК Se/Ag вызывает деформацию бактериальных клеток и их последующую гибель. [Perfileva et.al., 2017; Перфильева и др., 2018] Ранее авторами было показано с применением сканирующей электронной микроскопии, что после инкубации *Cms* с НК Se/Ag на поверхности бактериальной клетки наблюдались прикрепленные НЧ Se, происходит изменение трансмембранного потенциала клетки [Lesnichaya et.al., 2022], отмечается изменение морфологии клетки. Клетки *Cms* из палочкообразных спустя сутки инкубации с НК становились шарообразными.

В качестве механизма влияния НК на морфологию бактерии, предположили изменение текучести бактериальной мембраны. Показан жирнокислотный профиль *Cms*, который может быть использован для исследований возможных воздействий наноматериалов на жизнеспособность бактерии. Выявлено 17 жирных кислот с длиной цепи от 12 до 20 атомов углерода. Профиль ЖК *Cms* был представлен насыщенными разветвленными ЖК (i12:0; a14:0; a15:0; i15:0; i16:0; i17:0; a17:0), насыщенными прямоцепочечными ЖК (14:0; 15:0; 16:0; 17:0; 18:0), моноеновыми ЖК (16:1n-11; 18:1n-9), диеновыми ЖК (18:2 n-6), триеновыми ЖК (18:3 n-3). Среди них в контроле преобладали 16:0 (27%), 18:00 (31%), a15:0 (13%), i15:0 (10%).

При воздействии нанокompозитов наблюдается снижение уровня содержания насыщенных жирных кислот, в основном, пальмитиновой и стеариновой. Увеличение ненасыщенности происходит за счет значительного увеличения изо- и антеизо-жирных кислот C₁₄-C₁₇ ряда. Увеличение концентрации селена в составе нанокompозитов оказывает более сильное воздействие на изменение профиля жирных кислот мембранных липидов бактерий.

Считается, что, изменяя ЖК состав мембранных фосфолипидов, клетки пытаются поддерживать текучесть мембраны с помощью механизма, называемого «гомеовязкостной адаптацией». Это может быть достигнуто путем синтеза *de novo* мембранных липидов или ремоделирования ацильной цепи ЖК существующих фосфолипидов клеточной мембраны [De Carvalho et al., 2018]. В ремоделировании ацильной цепи ЖК участвуют десатуразы жирных кислот.

Оценка функциональной активности ацил-липидных десатураз выявила, что нанокompозиты селена повышают активность ω9- и ω3-десатураз, не оказывая влияния на активность ω6-десатуразы.

Действие нанокompозитов Se и Ag на фитопатогенную бактерию *Cms* приводит к ремоделированию липидного профиля в результате изменения активности ацил-липидных ω9-, ω6- и ω3-десатураз и, как следствие, повышения ненасыщенности жирных кислот. В результате изменения количества жирных кислот и увеличения степени их ненасыщенности происходит повышение текучести и проницаемость клеточной мембраны, что приводит к разрушению клеточной стенки и гибели бактерий. Модификация жирнокислотного состава липидов *Cms* под влиянием нанокompозитов селена и арабиногалактана выступает одним из ключевых механизмов реализации их бактериостатического эффекта.

Таким образом, в настоящем исследовании показан уникальный профиль ЖК *Cms*, который может быть в дальнейшем использован для систематики бактерий и служить отправной точкой для исследований возможных воздействий наноматериалов на бактерии.

Отмечено, что чем больше содержание селена в составе НК, тем выше сумма ненасыщенных и разветвленных ЖК. Полученные результаты показали, что действие НК Se и их предшественников на *Cms*, по-видимому, приводит к ремоделированию липидов, которое происходит в результате активности ацил-липидных ω 9-, ω 6- и ω 3-десатураз, отвечающих за введение двойных связей в углеводородные цепи олеиновой (18:1(n-9)), линолевой (18:2(n-6)) и α -линоленовой (18:3(n-3)) ЖК. В связи с этим возрастала ненасыщенность ЖК липидов *Cms*. Мы предполагаем, что в результате ремоделирования ЖК и увеличения степени их ненасыщенности, увеличивалась текучесть и проницаемость мембраны. Также увеличение текучести мембран *Cms* происходило, вероятно, в результате увеличения характерных для бактерий изо- и антеизо-ЖК при действии НК и их предшественников. Изменения в составе ЖК липидов *Cms* под действием НК Se и их предшественников являются одним из механизмов их антибактериального эффекта.

Литература

Перфильева А.И., Ножкина О.А., Граскова И.А., Сидоров А.В., Лесничая М.В., Александрова Г.П., Долмаа Г., Клименков И.В., Сухов Б.Г. Синтез нанобиокмполитов селена и серебра и их влияние на фитопатогенную бактерию *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* // Известия Академии наук. 2018. №1. С.157-163.

De Carvalho C. C. C. R, Caramujo, M. J. The Various Roles of Fatty Acids// Molecules. 2018. 23 (10). 2583.

Lesnichaya M., Perfileva A., Nozhkina O., Gazizova A., Graskova I. Synthesis, toxicity evaluation and determination of possible mechanisms of antimicrobial effect of arabinogalactane-capped selenium nanoparticles // J. Trace Elem Med Biol. 2022. V. 69. 126904.

Perfileva A.I., Moty'leva S.M., Klimenkov I.V., Graskova I.A., Sukhov B.G., Trofimov B.A.. Development of antimicrobial nano-selenium biocomposite for protecting potatoes from bacterial phytopathogens // Nanotechnologies in Russia. 2017. № 12 (9-10). С. 553-558.

НЕТИПИЧНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА *luxI/luxR* В АГЛ-ЗАВИСИМЫХ QUORUM SENSING СИСТЕМАХ

Ю.В. Зайцева, И.В. Злобин, Е.Д. Перова, М.Н. Соколов

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль,
zjv9@mail.ru

Quorum Sensing (QS) – это сложный регуляторный механизм, связанный с вирулентностью и адаптацией бактерий к меняющимся условиям окружающей среды. Ключевыми компонентами QS являются низкомолекулярные сигнальные молекулы (аутоиндукторы) и специфические рецепторные белки. У представителей филума Pseudomonadota основными медиаторными молекулами QS являются N-ацил-L-гомосеринлактоны (АГЛ). В основе АГЛ-регулируемых QS систем лежат ген АГЛ-синтазы (семейство *luxI*) и родственный ему ген-регулятор транскрипции (семейство *luxR*).

Классической моделью QS типа LuxI/LuxR считается система морской бактерии *Aliivibrio fischeri*, где комплекс аутоиндуктора с белком LuxR активирует транскрипцию целевых генов [1]. Гены *luxR* и *luxI* расположены в непосредственной близости друг от друга, но транскрибируются дивергентно. Между ними расположена общая регуляторная область – *lux*-бокс, участок ДНК длиной около 20 пар нуклеотидов. Связывание активного комплекса LuxR-аутоиндуктор с *lux*-боксом стимулирует экспрессию *lux*-оперона, в который входит *luxI*, следовательно, резко возрастает синтез аутоиндуктора.

Позднее было обнаружено, что гены QS могут располагаться в различных топологиях, транскрибируясь конвергентно или дивергентно, и даже перекрываясь на 3'-концах. Было показано, что организация и перекрывающиеся паттерны этих смежных генов могут влиять на тонкую настройку регуляторных механизмов у прокариот. Эти механизмы представляют особый интерес для изучения регуляции QS.

Целью работы являлось изучение топологии генов и особенностей регуляции АГЛ-опосредованной QS системы у *Serratia proteamaculans* 94.

В работе использовали психротрофный штамм *S. proteamaculans* 94, выделенный из испорченного мяса. Геном *S. proteamaculans* 94 был секвенирован и депонирован в Генбанк (BioProject PRJNA692354). В наших предыдущих работах были получены нокаутированные мутанты по генам QS системы – *sprI* и *sprR* [3]. Культивирование штаммов проводили в жидкой среде LB при 28°C в течение 24 часов. Отбор проб осуществляли на 10 и 18 часах, соответствующих экспоненциальной и стационарной фазам роста. Уровни экспрессии гена *sprI* анализировали методом ПЦР-РВ. Дизайн праймеров осуществляли с помощью ПО GeneRunner. В качестве референсных генов использовали гены домашнего хозяйства - *16S rRNA* и *gyrB*.

Анализ генома *S. proteamaculans* 94 показал, что гены *sprI* и *sprR* располагаются в одном локусе конвергентно, их 3'-концы перекрываются на глубину 27 п.о. Организация локуса *sprIR* относится к числу нетипичных схем, отклоняющихся от классической системы *Aliivibrio fischeri*. При помощи инструмента *oregon mapper* на основании межгенных расстояний предсказано, что эти гены не входят в состав оперонов и транскрибируются независимо. Анализ апстрим-регионов обоих генов с использованием программы *bprom* позволил выявить несколько потенциальных промоторных областей. Одна из них, находящаяся в апстриме гена *sprR*, перекрывается с сайтом связывания белка SprR и представляет собой *lux*-box (*spr*-box).

У штамма дикого типа уровень экспрессии *sprI* оставался очень низким в обеих исследованных фазах роста. Наиболее высокий уровень экспрессии *sprI* наблюдался у штамма с нокаутированным геном рецептора АГЛ - *S. proteamaculans* 94R. Уровень экспрессии гена *sprI* у штамма с нокаутированным геном синтазы АГЛ *S. proteamaculans* 94I был сходен с экспрессией у дикого типа. Полученные нами данные согласуются с моделью QS репрессорного типа, характерной для некоторых представителей рода *Serratia* [2]. В канонической схеме белок неактивен в отсутствие аутоиндуктора и связывание с АГЛ стабилизирует его, способствуя димеризации и активации транскрипции [1]. В случае репрессоров белок без АГЛ активно связывается с ДНК и подавляет транскрипцию целевых генов. При достижении пороговой концентрации АГЛ молекула аутоиндуктора связывается с белком, вызывая его диссоциацию от ДНК и подавление экспрессии. Полученные данные свидетельствуют о том, что белок SprR выступает в роли репрессора собственной транскрипции. Снятие репрессии происходит при связывании SprR с молекулой АГЛ, что запускает каскад QS-зависимых реакций.

Перекрывающиеся паттерны этих смежных генов также могут влиять на регуляцию механизмов QS. Взаимодействие между транскриптами, перекрывающимися на 3'-концах, может запускать механизм транскрипционной интерференции. Подобная структура, включающая потенциальные дополнительные регуляторные элементы, может обеспечивать более гибкую и тонкую настройку экспрессии генов в ответ на изменения плотности популяции и физиологического состояния клеток, потенциально способствуя эффективной адаптации бактерий к меняющимся условиям окружающей среды.

Литература

Fuqua C., Parsek M. R., Greenberg E. P. Regulation of gene expression by cell-to-cell communication: acyl-homoserine lactone quorum sensing // Annual review of genetics. – 2001. – Т. 35. – №. 1. – С. 439-468.

Horng Y. T. et al. The LuxR family protein SpnR functions as a negative regulator of N-acylhomoserine lactone-dependent quorum sensing in *Serratia marcescens* // Molecular microbiology. 2002. №. 6. С. 1655-1671.

Zaitseva Y. V. et al. SprI/SprR quorum sensing system of *Serratia proteamaculans* 94 // BioMed Research International. 2019. №. 1. С. 1-10.

ДОМИНИРОВАНИЕ ЖЕЛЕЗООКИСЛЯЮЩИХ ХЕМОЛИТОТРОФОВ В МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ НАРЗАНОВ ДЖИЛЫ-СУ (ПРИЭЛЬБРУСЬЕ)

А.О. Изотова¹, А.В. Комова¹, К.Р. Хазиева¹, Г.С. Качмазов², С.В. Тоцаков¹

¹ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, anu.izotova@mail.ru

² Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова, Владикавказ

Минеральные источники урочища Джилы-Су относятся к уникальным высокогорным гидроминеральным системам Приэльбрусья, микробные сообщества которых вплоть до настоящего времени практически не были охарактеризованы. Расположенные у северного подножия Эльбруса на высоте ~2380 м, источники представляют собой субтермальные нарзаны, прогретые до 16–23°C и насыщенные восстановленным железом Fe(II) вместе с углекислотой. При выходе на поверхность эти воды контактируют с атмосферным кислородом, формируя устойчивый окислительно-восстановительный градиент, который структурирует микробное сообщество по функциональным нишам.

Целью исследования являлась характеристика таксономического состава микробных сообществ минеральных источников Джилы-Су методом высокопроизводительного секвенирования V4-региона гена 16S рРНК, оценка связи структуры сообществ с физико-химическими параметрами среды, а также реконструкция их функционального и метаболического профиля на основе таксономического состава.

Физико-химические параметры источников измеряли *in situ* (температура 16,4–22,6°C, pH 6,22–6,74, минерализация 0,72–4,01 г/л, содержание растворенного кислорода 3,2–37,7% от насыщения, Eh от –35 до +75 мВ). Содержание железа в воде источников по разным оценкам варьирует от 6,8 до 62,7 мг/л [Жинжакова, 2010; Лаврушин, 2012]. Такая комбинация восстановленных подземных вод с выраженным кислородным градиентом создает геохимические условия, характерные для местообитаний нейтрофильных Fe(II)-окислителей.

Для анализа состава микробных сообществ были отобраны пробы воды и донных осадков. Пробы воды, последовательно профильтрованные через мембраны 0,45 и 0,22 мкм, и донные осадки консервировали при помощи RNeasy. ДНК выделяли из каждого образца отдельно. Генерацию вариантов амплифицированных последовательностей (ASV) выполняли алгоритмом DADA2, таксономическую классификацию проводили по базе данных SILVA 138.2. Предсказание функциональных профилей и метаболических путей сообществ по таксономическому составу проводили с помощью пакета FAPROTAX.

В полученных данных 96,0% прочтений были отнесены к бактериям, тогда как архейная фракция составляла всего 4,0%, большая часть которой относилась к филуму Nanoarchaeota (58,6% всех архейных последовательностей). В водной фазе преобладали нейтрофильные железоокисляющие бактерии *Gallionella* и *Sideroxydans*, составлявшие суммарно до 73% автохтонного сообщества источников. Эти роды развиваются на границе между восстановленными подземными водами и аэрированной поверхностной зоной. В осадках, напротив, доминировали факультативные анаэробы *Aeromonas* (до 65,1%) и *Shewanella* (до 16,0%), представляющие собой железоредукторы, способные восстанавливать соединения окисленного железа Fe(III), формирующиеся в водной толще в результате деятельности железоокислителей.

Альфа-разнообразие не показало статистически значимых различий между водными и осадочными образцами, что характерно для железистых мезотермальных источников [Hegler, 2012]. При этом RDA-ординация показала, что различия в структуре сообществ связаны с содержанием кислорода, окислительно-восстановительным потенциалом, температурой и pH, объясняя 39% общей дисперсии (RDA1 - 28,9%, RDA2 - 10,1%).

Реконструкция метаболических профилей методом FAPROTAX выявила в водных фракциях доминирование хемолитотрофного окисления Fe(II), тогда как в осадках преобладали восстановление нитратов, хемоорганотрофия и ферментация. Такое функциональное разделение отражает дифференциацию сообществ вдоль редокс-градиента между восстановленными подземными водами и аэрированной поверхностной зоной и представлено в RDA-ординации (Рисунок).

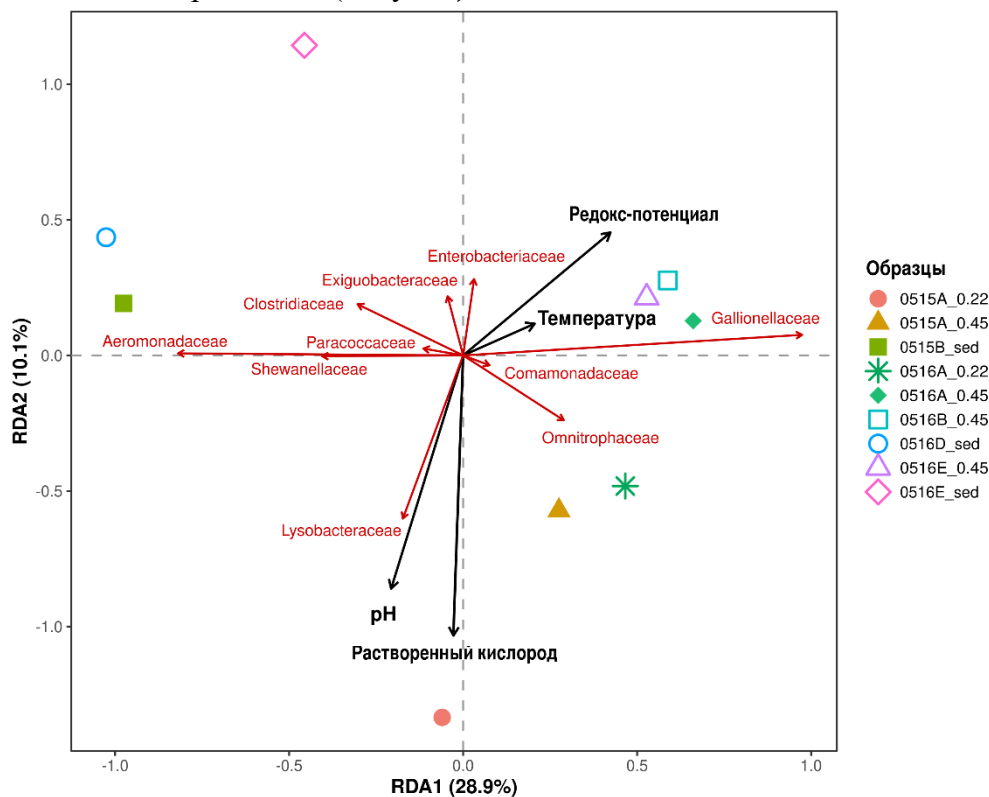


Рисунок - RDA-ординация микробных сообществ исследованных образцов с наложением векторов абиотических факторов и доминирующих семейств

Таким образом, результаты метабаркодирования микробных сообществ нарзанов Джилы-Су показали, что энергетический метаболизм данной экосистемы определяется сопряженным циклом окисления и восстановления железа и характеризуется выраженным функциональным зонированием вдоль окислительно-восстановительного градиента. Ключевую роль в водной фазе играют микроаэрофильные Fe(II)-окисляющие хемолитотрофы *Gallionella* и *Sideroxydans*; сообщества донных осадков, напротив, определяются хемогетеротрофными и анаэробными таксонами, замыкающими локальный биогеохимический цикл железа. Присутствие Nanoarchaeota и других некультивируемых архей указывает на сложную структуру микробных сообществ этих малоизученных гидроминеральных объектов Большого Кавказа.

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

Литература

- Жинжакова Л. З. и др. Исследование химического состава вод минеральных источников в районе Джилы-Су // Обеспечение охраны, улучшения и восстановления поверхностных водных объектов в Западно-Каспийском бассейновом округе. – 2011. – С. 172-176.
- Лаврушин В. Ю. Подземные флюиды Большого Кавказа и его обрамления // Труды геологического института. – 2012. – №. 599. – С. 1-348.
- Hegler F. et al. Influence of seasonal and geochemical changes on the geomicrobiology of an iron carbonate mineral water spring // Applied and environmental microbiology. – 2012. – Т. 78. – №. 20. – С. 7185-7196.

МОДУЛЯЦИЯ МЕТАБОЛИЗМА ПОРФИРИНОВ У МИКОБАКТЕРИЙ КАК ПОДХОД К СЕЛЕКТИВНОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

С.И. Касаткина¹, Д.И. Багаева¹, Г.Р. Демина¹, А.П. Савицкий¹, М.О. Шлеева¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, kasatkinasvetlana7722@gmail.com

Рост антибиотикорезистентности и трудности эрадикации персистирующих форм микобактерий (включая *Mycobacterium tuberculosis*) стимулируют поиск альтернативных подходов к терапии. Антибактериальная фотодинамическая терапия (аФДТ) основана на активации фотосенсибилизатора светом, что приводит к генерации активных форм кислорода и гибели бактерий [Wainwright, 2017]. Преимуществами аФДТ являются неспособность вызывать развитие резистентности у бактерий, а также возможность воздействия на метаболически неактивные формы. Ключевым ограничением является необходимость экзогенного введения фотосенсибилизатора. Альтернативный подход связан с использованием эндогенных фотосенсибилизаторов, естественных тетрапиррольных предшественников (порфиринов, хлоринов), которые накапливаются в бактериях при нарушении метаболизма тетрапирролов [Shashin, 2023].

Ранее в нашей лаборатории впервые было установлено, что эффективность аФДТ коррелирует с уровнем накопления свободных внутриклеточных порфиринов, которые выступают в роли естественных фотосенсибилизаторов микобактерий [Shleeva, 2019]. Перспективным путём повышения селективности аФДТ является модуляция активности ферментов, уникальных для микобактерий и участвующих в биосинтезе тетрапирролов. Однако до настоящего времени не существовало стратегии селективного накопления этих соединений именно в бактериальных клетках без воздействия на клетки макроорганизма.

С помощью *in silico* анализа в качестве мишени выделена сирогемсинтаза MSMEG_2618 (CysG) – фермент, катализирующий три последовательные реакции образования сирогема (тетрапиррола, служащего простетической группой в нитритредуктазах и сульфитредуктазах) [Dailey, 2017]. Данные литературы свидетельствуют, что гиперэкспрессия CysG у *E. coli* и дрожжей ведёт к накоплению флуоресцирующих тетрапиррольных предшественников, которые могут служить полезными маркерами для исследований биосинтетического пути сирогема [Wildt, 1999]. Снижение активности фермента также может создавать «узкое место», приводящее к аккумуляции предшественников, которые могут трансформироваться в флуоресцирующие производные порфиринов. Логично было предположить, что подобные эффекты изменения профиля тетрапирролов за счет модуляции активности сирогемсинтазы могут приводить к повышению фоточувствительности микобактерий.

Цель данной работы – оценка влияния гиперэкспрессии и делеции гена MSMEG_2618 на накопление эндогенных фотосенсибилизаторов и фоточувствительность *M. smegmatis*.

Для изучения влияния увеличенного синтеза сирогемсинтазы MSMEG_2618 был получен модифицированный штамм модельного микроорганизма *Mycobacterium smegmatis*, несущий плазмиду pMV261_MSMEG_2618, обеспечивающую высокоуровневую экспрессию гена MSMEG_2618. Колонии полученного штамма имели характерную серую окраску при обычном освещении и розовую флуоресценцию при освещении УФ (365 нм). Была проведена оценка накопления флуоресцентных продуктов в модифицированных бактериальных штаммах с гиперэкспрессией MSMEG_2618. Для усиления наблюдаемой флуоресценции в среду культивирования добавлялась 5-аминолевулиновая кислота (АЛК) – ключевой предшественник в биосинтезе тетрапирролов. Спектральный анализ флуоресценции выявил характерные эмиссионные пики при длинах волн 605 нм, 625 нм и 650 нм, соответствующие прекоррину-2, порфиринам (уропорфиру или копропорфиру) и сирогидрохлорину соответственно. Добавление экзогенной АЛК (2 мМ) приводило к усилению всех пиков примерно в 3–5 раз, при этом наиболее выраженный

рост наблюдался для пика порфиринов (625 нм). Контрольный штамм с пустой плазмидой *M. smegmatis* демонстрировал максимумы флуоресценции, характерные для порфиринов (625 нм), особенно после добавления экзогенной АЛК. Эти результаты свидетельствуют о том, что наблюдаемый «флуоресцентный» фенотип обусловлен повышенным уровнем прекорринов, порфиринов и/или сирогидрохлорина – ключевых промежуточных продуктов тетрапиррольного биосинтеза. Это наблюдение подчеркивает роль MSMEG_2618 в усилении биосинтеза тетрапирролов и, как следствие, в увеличении результирующей флуоресценции.

Для исследования фотодинамической активности накопленных тетрапиррольных соединений было проведено облучение бактериальных суспензий монохроматическим светом с длинами волн 565 нм и 640 нм. Анализ выживаемости клеток с гиперэкспрессией сирогемсинтазы после их облучения светом длиной волны 565 нм демонстрировал повышенную фоточувствительность клеток. Уровень выживаемости этих клеток оценивался в 14,5% по сравнению с контрольным штаммом. При облучении светом длиной волны 640 нм доля выживших клеток составила 90% по сравнению с контрольным штаммом. Эти данные подтверждают выраженное токсическое воздействие облучения длиной волны 565 нм на бактерии с гиперэкспрессией сирогемсинтазы и указывает на ключевую роль данного фермента в реализации наблюдаемого фотодинамического эффекта. Способность гиперэкспрессирующих штаммов аккумулировать фотосенсибилизаторы, которые при облучении вызывают гибель клеток, делает их потенциальными мишенями для аФДТ.

Для оценки влияния ингибирования активности сирогемсинтазы был сконструирован делеционный штамм *M. smegmatis* по гену MSMEG_2618. Спектральный анализ флуоресценции клеток мутантного штамма выявил значительное увеличение интенсивности пика, соответствующего порфириновым соединениям (625 нм) по сравнению со спектром клеток дикого типа, тогда как пики прекоррина-2 (605 нм) и сирогидрохлорина (650 нм) отсутствовали. При фотодинамическом облучении (565 нм) делеционный штамм показал значительное снижение выживаемости. Жизнеспособность штамма с делецией снижалась в 442 раза по сравнению с необлученными клетками, в то время как выживаемость дикого типа *M. smegmatis* снизилась в 5,7 раза.

Таким образом, показано, что как гиперэкспрессия, так и делеция гена приводят к повышению уровня эндогенных порфиринов и многократному увеличению фоточувствительности при облучении светом 565 нм. Полученные данные обосновывают новую стратегию аФДТ, основанную на метаболической сенсibilизации микобактерий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 25-45-10015.

Литература

- Dailey H.A., Dailey T.A., Gerdes S. et al. Prokaryotic heme biosynthesis: multiple pathways to a common essential product // Microbiology and molecular biology reviews. 2017. Vol. 81. № 1. P. e00048-16.
- Shashin D.M., Demina G.R., Linge I.A. et al. The effect of antimicrobial photodynamic inactivation on the protein profile of dormant Mycolicibacterium smegmatis containing endogenous porphyrins // International journal of molecular sciences. 2023. Vol. 24. № 18. P. 13968.
- Shleeva M.O., Savitsky A.P., Nikitushkin V.D. et al. Photoinactivation of dormant Mycobacterium smegmatis due to its endogenous porphyrins // Applied microbiology and biotechnology. 2019. Vol. 103. № 23-24. P. 9687-9695.
- Wainwright M., Maisch T., Nonell S., Plaetzer K., Almeida A., Tegos G.P., Hamblin M.R. Photoantimicrobials – are we afraid of the light? // The Lancet. Infectious diseases. 2017. Vol. 17. № 2. – P. e49-e55.
- Wildt S., Deuschle U. cobA, a red fluorescent transcriptional reporter for Escherichia coli, yeast, and mammalian cells // Nature biotechnology. 1999. Vol. 17. № 12. P. 1175-1178.

КАТАБОЛИЧЕСКАЯ ИЗБЫТОЧНОСТЬ БАКТЕРИЙ РОДА *RHODOCOCCLUS* ПРИ ОКИСЛЕНИИ *n*-АЛКАНОВ

Л.П. Комарова^{1,2}, А.В. Криворучко^{1,2}, И.Б. Ившина^{1,2}

¹ Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, Пермь, nast@iegm.ru

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, liliabasket7@gmail.com

Угледородоокисляющие бактерии рода *Rhodococcus* характеризуются беспрецедентно большим разнообразием ферментов. Родоккокки способны к разложению широкого спектра гидрофобных органических соединений, в том числе эмерджентных загрязнителей [Ившина и др., 2025; Cappelletti *et al.*, 2019]. Ферменты биodeградации у *Rhodococcus* spp. относятся в основном к классу оксидоредуктаз, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции и обладают низкой субстратной специфичностью. Спектры превращаемых соединений нередко перекрываются. Этот феномен называется катаболической избыточностью (catabolic redundancy), которая не позволяет клеткам оставаться без источника углерода и энергии и способствует их защите от токсикантов. Механизмы этого явления (сохранение баланса между затратой ресурсов на синтез ферментов со сходными функциями и способностью клеток усваивать различные соединения) мало исследованы. Известно, что первичное окисление *n*-алканов у родоккокков может происходить при участии алканмонооксигеназ AlkB, растворимых ди-железосодержащих монооксигеназ SDIMO, цитохром P450-зависимых монооксигеназ и медьсодержащих мембранных монооксигеназ CuMMO, при этом ферментов одного типа в клетке может быть несколько [Ившина и др., 2025; Amouric *et al.*, 2010]. Вклад каждого из этих ферментов, их роль в окислении *n*-алканов и механизмы их регуляции недостаточно изучены.

Цель настоящей работы – исследование экспрессии генов, кодирующих алкан-1-монооксигеназы AlkB (гены *alkB*) и растворимые ди-железосодержащие монооксигеназы SDIMO (ген *mmoAa*, кодирующий синтез α -субъединицы гидроксилазного компонента A), у родоккокков в присутствии *n*-алканов (C₃–C₁₆).

В работе использовали штаммы из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, #285 WFCC, <http://www.iegmcoll.ru/>) с известными полногеномными последовательностями: *Rhodococcus ruber* ИЭГМ 231, ИЭГМ 1156, *Rhodococcus* sp. ИЭГМ 1354, ИЭГМ 1372, ИЭГМ 1379, ИЭГМ 1381 и ИЭГМ 1404. Геномы депонированы в DDBJ/ENA/GenBank под номером проекта BioProject PRJNA783162. Бактерии выращивали в минерально-солевой среде RS с 0,1% D-глюкозы или углеводов (*n*-алканы C₅–C₁₆) при 160 об/мин, температуре 28°C в течение от 1 до 14 сут. В случае газообразных углеводов бактерии выращивали в газовой-воздушной смеси с пропаном или *n*-бутаном. Клетки разрушали с помощью 40 мг/мл лизоцима (Helicon, Москва) при температуре 37°C в течение 1 ч и далее порционно добавляли 10% додецилсульфата натрия. Для выделения РНК использовали набор RNA Solo с ДНКазой в составе (Евроген, Москва). При постановке ПЦР с обратной транскрипцией использовали набор реактивов HiScript[®] III 1st Strand cDNA Synthesis Kit (Vazyme, Китай), количественной ПЦР – набор 5X qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия), известные праймеры к консервативному участку генов *alkB* [Táncsics *et al.*, 2015], праймеры к генам *alkB1*, *alkB2* и *mmoAa* *R. ruber* ИЭГМ 231, подобранные с помощью программы Primer-BLAST (NCBI, США), и амплификатор Real-time CFX Connect (Bio-Rad, США). Цифровую ПЦР выполняли на платформе DropDX-2044HT с использованием набора реактивов Digital PCR Mastermix for Probes (RainSure Scientific, Китай). Исходную концентрацию РНК и кДНК контролировали при помощи флуориметра Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США). Определяли относительные уровни экспрессии генов по методу $\Delta\Delta C_t$ с нормированием на референсный ген *gyrB* и абсолютные уровни экспрессии генов с

панелями стандартов и прямым подсчетом количества транскриптов в цифровой ПЦР. Все эксперименты проводили в 3–8-кратной повторности.

В результате постановки ПЦР с консервативными праймерами к генам *alkB* выявлено наличие транскриптов этих генов в присутствии всех использованных субстратов. Это свидетельствует о функциональной значимости и универсальности алкан-1-монооксигеназ при окислении *n*-алканов. Для родококков характерно наличие нескольких генов *alkB*. Так, *R. ruber* имеет два гена *alkB*. Уровень гомологии между ними составляет 75%, в их ближайшем окружении обнаружены гены, кодирующие железосерные белки и рубредоксины, что свидетельствует о вероятной функциональности обоих генов. Установлено, что гены *alkB1* и *alkB2* *R. ruber* участвуют в окислении *n*-алканов C₃–C₄ и C₈–C₁₆. Экспрессия обоих генов статистически достоверно возрастает в присутствии *данных соединений* по сравнению с глюкозой. При этом *alkB1* экспрессируется на более высоком уровне, чем *alkB2*, достигая максимальных значений в присутствии *n*-додекана. Разница в уровнях экспрессии генов *alkB1* и *alkB2* составляет 14 раз при окислении *n*-додекана и 1700 раз при окислении *n*-гексадекана.

Ди-железосодержащие растворимые монооксигеназы SDIMO участвуют в окислении только газообразных алканов, при этом экспрессия гена *mmoAa* возрастает в 26000–52000 раз в присутствии пропана и *n*-бутана по сравнению с глюкозой. Это свидетельствует о высокой активности и относительно узкой специализации данных ферментов в отличие от монооксигеназ AlkB. Не зарегистрированы статистически значимые изменения уровней экспрессии гена *mmoAa* и генов *alkB* по сравнению с глюкозой при культивировании родококков в присутствии токсичных летучих *n*-алканов C₅–C₇. Данные углеводороды действуют как растворители в отношении липидов цитоплазматической мембраны и клеточной стенки, вызывая, по-видимому, сильный стрессовый ответ. Можно предположить участие в усвоении этих алканов других ферментов, например, цитохромов P450.

Таким образом, родококки используют одновременно несколько ферментов для окисления углеводородов. В окислении жидких *n*-алканов со средней и длинной цепью (≥8 атомов углерода) принимают участие две алкан-1-монооксигеназы AlkB; наибольший вклад в окисление газообразных пропана и *n*-бутана вносят многокомпонентные комплексы MmoABC при минорном участии AlkB. Вклад нескольких ферментов обеспечивает родококкам сохранение роста и жизнеспособности в присутствии конкретного углеводорода даже при условии нарушения функции одного из ферментов.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (госзадания № 122031400671-1, 124020500028-4) с использованием оборудования ЦКП “Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов” Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

Литература

Ившина И.Б., Куюкина М.С., Криворучко А.В., Тюмина Е.А. Актиномицеты *Rhodococcus ruber* – ключевые и универсальные биоокислители газообразных алканов C₂–C₄ // Микробиология. 2025. Т. 94, № 1. С. 3–32.

Amouric A., Quéménéur M., Grossi V., Liebgott P.P., Auria R., Casalot L. Identification of different alkane hydroxylase systems in *Rhodococcus ruber* strain SP2B, a hexane-degrading actinomycete // Journal of Applied Microbiology. 2010. V. 108. No. 6. P. 1903–1916.

Cappelletti M., Zampolli J., Zannoni D. Genomics of *Rhodococcus* / In: H.M. Alvarez [ed.]. Biology of *Rhodococcus*. Microbiology Monographs 16. Switzerland AG: Springer Nature, 2019. P. 23–60.

Táncsics A., Benedek T., Szoboszlai S., Veres P.G., Farkas M., Máthé I., Márialigeti K., Kukolya J., Lányi S., Kriszt B. The detection and phylogenetic analysis of the alkane 1-monooxygenase gene of members of the genus *Rhodococcus* // Systematic and Applied Microbiology. 2015. V. 38. No. 1. P. 1–7.

РОЛЬ МАЛИЛ-КОА-ТИОЭСТЕРАЗЫ В АДАПТАЦИИ К ИЗМЕНЕНИЮ РОСТОВОГО СУБСТРАТА У *RHODOBACTER CAPSULATUS*

Е.В. Майорова¹, Е.П. Петушкова¹

¹Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пущино, e-mail: ekaterina.majorova.97@mail.ru, peteka2008@gmail.com

Rhodobacter capsulatus относится к пурпурным несерным бактериям (ПНСБ), которые могут расти в различных условиях окружающей среды, проявляя метаболическую гибкость при выборе различных режимов питания и получения энергии [Кондратьева, 1996]: фотоавтотрофии, фотогетеротрофии, хемоавтотрофии, хемоорганогетеротрофии. Способность к синтезу ряда практически значимых соединений [Morrison and Bose, 2025] и возможность расти с использованием органических кислот из ферментационных жидкостей, получаемых после переработки пищевых отходов, делают их перспективными с биотехнологической точки зрения [Lu et al., 2021]. Необходимо отметить, что в составе органических кислот пищевых отходов преобладает ацетат. Для синтеза из двууглеродного субстрата более крупных молекул бактериям необходимы анаплеротические пути. У *Rba. capsulatus* после их активации во время адаптации к ассимиляции ацетата лаг-период в росте не выражен при повторных пересевах на среду с ацетатом [Петушкова, 2017]. Переход же от роста с использованием промежуточных продуктов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) или лактата к росту на ацетате как единственном источнике органического углерода вызывает длительный лаг-период [Petushkova, 2021]. У *Rba. capsulatus* B10 на уровне присутствия генов и транскриптов обнаружено несколько анаплеротических путей [Петушкова, 2017]. В трех из них синтезируется глиоксилат как основной предшественник в образовании малата – интермедиата ЦТК. Для дальнейшего превращения глиоксилата в малат у *Rba. capsulatus* B10 имеются гены трех альтернативных наборов реакций: малил-КоА/(S)-цитрамалил-КоА-лиаза (EC: 4.1.3.24/4.1.3.25) катализирует образование L-малил-КоА; последний под действием (3S)-малил-КоА-тиоэстеразы (EC: 3.2.1.30) превращается в (S)-малат; малатсинтазы А и малатсинтазы G катализируют непосредственную конденсацию глиоксилата и ацетил-КоА в молекулу малата. При этом гены, кодирующие эти ферменты, расположены в разных участках генома.

В рамках данной работы было предложено уточнить значение и вклад этилмалонил-КоА пути в восполнение интермедиатов ЦТК на уровне образования малата. С помощью инсерционного мутагенеза с использованием неподдерживающейся в ПНСБ конъюгативной плазмиды рEX18Tc был получен мутантный штамм *Rba. capsulatus* ΔcitE1 с делецией структурной части гена *citE1*, кодирующего 3(S)-малил-КоА-тиоэстеразу. Полученный мутантный штамм ΔcitE1 и штамм B10 родительского типа *Rba. capsulatus* сравнили при разных условиях культивирования. Поскольку *Rba. capsulatus* обладает генетическим потенциалом для функционирования анаплеротических путей - как имеющих стадии карбоксилирования субстрата, так и работающих без них [Петушкова, 2017], - выращивание проводили на разных органических субстратах (малате и ацетате) в присутствии или отсутствии неорганического углерода (CO₂ или бикарбоната).

При выращивании на ацетате без добавления в ростовую среду углекислого газа и бикарбоната культуры проявляли сходство в росте как в аэробных темновых, так и в фототрофных анаэробных условиях культивирования. После второго пересева на среду с ацетатом стационарная фаза роста наступала приблизительно через 20 часов. Скорость роста на среде с малатом в фототрофных анаэробных условиях выращивания у штаммов не различалась. Однако в аэробных темновых условиях рост штамма ΔcitE1 был замедлен по сравнению с родительским. Отличие «малатных» культур было выражено в значении максимальной оптической плотности: у дефицитного по малил-КоА-тиоэстеразе штамма она была ниже (1,18 ед.), чем у штамма B10 (1,6 ед.). В аэробных условиях роста

максимальная оптическая плотность штамма Δ citE1 была меньше, чем у родительского штамма на среде с ацетатом.

В присутствии CO_2 /бикарбоната в фототрофных анаэробных условиях время выхода культур *Rba. capsulatus* B10 в стационарную фазу роста оставалось неизменным (при росте как на малате, так и на ацетате – примерно 10-12 ч). В то же время скорость роста мутантного штамма Δ citE1 была снижена. Кроме того, максимальная оптическая плотность культуры *Rba. capsulatus* Δ citE1 на среде с малатом была примерно в два раза меньше, чем на среде без добавления CO_2 /бикарбоната (составляет 0,6 ед.). Это указывает на активацию этилмалонил-КоА пути в присутствии неорганического углерода. Однако на среде с малатом происходил меньший прирост биомассы, вероятно, вследствие образования малил-КоА, который не превращался далее в малат из-за отсутствия тиоэстеразы. На среде с ацетатом, по-видимому, отсутствие малил-КоА-тиоэстеразы компенсировалось активировавшимся альтернативным метаболическим путем – например, с участием малатсинтазы, которая при конденсации глиоксилата из этилмалонил-КоА пути с молекулой ацетил-КоА может приводить к образованию малата (или глиоксилат снова образовавшийся из накопившегося малил-КоА за счет обратимости реакции малил-КоА-синтазы, предшествующей малил-КоА-тиоэстеразе).

На среде с ацетатом и CO_2 /бикарбонатом в фототрофных анаэробных условиях, несмотря на замедленный рост, мутантный штамм демонстрировал увеличение максимальных значений оптической плотности культуры (2,5 ед. у Δ citE1 против 1,7-1,8 ед. для родительского штамма B10). По-видимому, мутантный штамм способен расти до еще большей плотности, так как в ходе эксперимента полная остановка роста не зафиксирована.

Аналогичные закономерности роста наблюдались в аэробных условиях с добавлением неорганического углерода при сравнении двух штаммов. Максимальная оптическая плотность культуры на среде с малатом была ниже и составляла всего 0,21 ед., а скорость роста была меньше, чем на среде без внесения неорганического углерода. На среде с ацетатом культура штамма Δ citE1 достигала плотности, как минимум 0,6 ед. Рост штамма Δ citE1 в этих условиях был медленным, но продолжался после 200 ч культивирования.

Таким образом, конститутивный этилмалонил-КоА путь в отсутствие дополнительного неорганического углерода не вносит значимого вклада в адаптацию культуры *Rba. capsulatus* B10 к росту с использованием ацетата как единственного органического субстрата. Присутствие CO_2 /бикарбоната повышает его активность и приводит к увеличению его вклада в адаптацию культуры к росту на ацетате, что выражается в поддержании высокой скорости роста культуры (по сравнению с Δ citE1 штаммом).

Работа выполнена в рамках ГЗ №125051305944-7.

Литература

Кондратьева, Е.Н. Автотрофные прокариоты: Учебное пособие / Е.Н. Кондратьева. Москва: Издательство МГУ, 1996. 312 с.

Петушкова, Е. П. Ассимиляция ацетата пурпурной несерной бактерией *Rhodobacter capsulatus* B10 : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / Петушкова Екатерина Павловна. - Пущино, 2018. 132 с.

Lu H., Zhang G., He S., Zhao R., Zhu D. Purple non-sulfur bacteria technology: a promising and potential approach for wastewater treatment and bioresources recovery // World J Microbiol Biotechnol. 2021. Vol. 37, No 9. P. 161.

Morrison H. M., Bose A. Purple non-sulfur bacteria for biotechnological applications // Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. 2025. Vol. 52. P. 1-21.

Petushkova E., Mayorova E., Tsygankov A. TCA cycle replenishing pathways in photosynthetic purple non-sulfur bacteria growing with acetate // Life (Basel). 2021. Vol. 11, № 7. P. 711.

ВЛИЯНИЕ НАТИВНОЙ И ИММОБИЛИЗОВАННОЙ НА УГЛЕРОДНЫХ НАНОЧАСТИЦАХ АЦИЛАЗЫ НА МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ

Ю.Г. Максимова^{1,2}, А.А. Панькова^{1,2}

¹«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь, yul_max@mail.ru

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, pankova.alexandra17@ya.ru

Борьба с биопленками микроорганизмов, вызывающими инфекции, коррозию, обрастания фильтров, оборудования и систем коммуникаций, является большой проблемой, требующей инновационных подходов. Одним из экологически безопасных и достаточно эффективных методов является использование ферментов для разрушения и предотвращения образования биопленок [Trizna et al., 2021]. Однако ферменты в окружающей среде быстро инактивируются, что, в свою очередь, ставит задачу поиска путей их стабилизации. Наиболее перспективным ее решением является иммобилизация ферментов на нерастворимом носителе.

Углеродные наночастицы могут проявлять собственное антибиопленочное действие. Нанобиокатализаторы – комплексы ферментов с углеродными наночастицами – обладают свойствами наноструктур и способностью к катализу. При этом взаимодействие с наночастицами должно способствовать увеличению дисперсности белка в водной среде и увеличивать площадь взаимодействия ферментов с субстратом.

Механизм действия ферментов на биопленки заключается, главным образом, в разрушении внеклеточного полимерного матрикса, воздействии на поверхностные структуры клетки и сигналы межклеточной коммуникации (кворум-сенсинга). Среди ферментов, воздействующих на биопленки, отмечают гликозидазы, протеазы и ДНКазы. При этом действие такого фермента, как аминоксилаза (КФ 3.5.1.14), на биопленки недостаточно очевидно. Ацилаза гидролизует амидные связи, отщепляя остаток карбоновой кислоты. Известны ацилазы, специфичные по отношению к ацил-гомосеринлактонам – сигналам кворум-сенсинга у грамотрицательных бактерий.

Целью работы явилось исследование действия нативной и адсорбированной на карбоксилированных многостенных углеродных нанотрубках (МУНТ-СООН, Нанотехцентр, Россия) ацилазы (500 Ед/г, Sigma Aldrich, Швейцария) на биопленки *Escherichia coli* ВКМ В-3858D. Массу адсорбированного белка определяли методом Бредфорда по разнице концентрации в растворе до и после иммобилизации. Морфометрические характеристики конъюгатов ацилазы (10 мг/мл) с МУНТ-СООН (0,2 мг/мл) определяли методом атомно-силовой микроскопии (АСМ, Asylum Research, США) в Rhodococcus-центре ПГНИУ. Биомассу биопленок оценивали по ОП₅₄₀ экстрагированного красителя кристаллического фиолетового.

АСМ-профиль конъюгатов ацилазы с МУНТ-СООН представлен на рис. 1, а. Медиана и интерквартильный размах [25%–75% процентиля] длины, ширины и высоты конъюгатов ацилазы-МУНТ-СООН составляли 81,30 [68,78–118,5] нм, 50,80 [41,03–64,43] нм и 4,836 [4,072–5,505] нм соответственно; данные статистически значимо не отличались от контрольной группы (МУНТ-СООН; критерий Краскела-Уоллиса с поправкой Данна, $p > 0,05$). Зафиксировано достоверное увеличение шероховатости (R_a) конъюгатов ацилаза-МУНТ-СООН по сравнению с исходными нанотрубками (рис. 1, б), что свидетельствует о формировании белкового слоя на поверхности нанотрубок при иммобилизации.

Оценили влияние нативной и конъюгированной ацилазы на образование биопленки *E. coli* (7 сут.). Установлено, что нативный фермент (10 мг/мл) достоверно ингибирует формирование биопленок: биомасса (ОП₅₄₀ = 1,368) снизилась в 1,5 раза относительно контрольной группы (ОП₅₄₀ = 2,026; $p < 0,0001$). Ингибирование сохранялось при воздействии 25 и 50 мг/мл фермента.

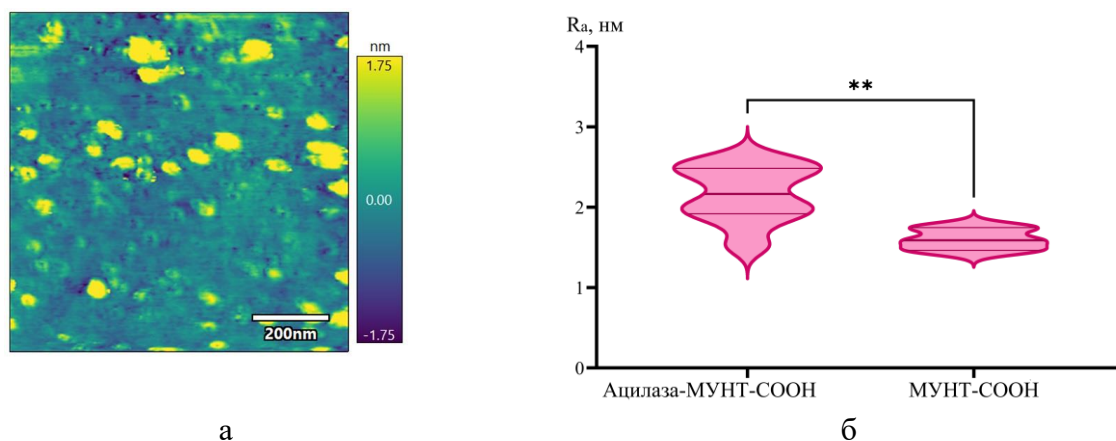


Рис. 1. Визуализация конъюгатов ацилазы-МУНТ-СООН методом АСМ (а) и шероховатость (Ra) их поверхности (б)

Конъюгация ацилазы с МУНТ-СООН позволяет значительно усилить её антибиопленочные свойства ($ОП_{540} = 1,111$) (рис. 2). Снижение биомассы биопленки при воздействии конъюгатов достоверно превосходит эффективность нативного фермента (ANOVA, $p < 0,05$). При воздействии МУНТ-СООН биомасса биопленок снижается в большей степени ($ОП_{540} = 0,877$), что указывает на собственное антибиопленочное действие модифицированных нанотрубок.

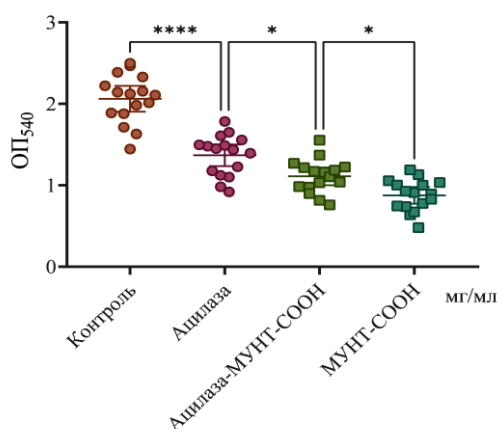


Рис. 2. Воздействие нативной (10 мг/мл) и иммобилизованной на МУНТ-СООН ацилазы на формирование биопленок *E. coli* (7 сут.), ANOVA с поправкой на критерий Тьюки, $p < 0,05$

Таким образом, показано снижение биомассы биопленок *E. coli* под действием нативной ацилазы и конъюгатов, полученных при адсорбции белка из 10 мг/мл ферментного препарата на 0,2 мг/мл МУНТ-СООН. Система «фермент-носитель» обеспечивает комплексное подавление развития биопленок *E. coli* и значительно превосходит по эффективности нативный фермент. При этом объяснение механизма действия ацилазы на биопленки требует дальнейшего изучения. Вероятно, действие ацилазы приводит к локальному закислению микроокружения клеток, активирует ответ клеток на стресс, нарушает электростатические взаимодействия, и, как следствие, снижает стабильность экзополимерного матрикса биопленки.

Работа поддержана госзадаанием, номер госрегистрации 124020500028-4 и грантом РНФ 24-24-20008, Пермский край, <https://rscf.ru/en/project/24-24-20008/>.

Литература

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СПОСОБ ДЕТОКСИКАЦИИ БЕЛОГО ФОСФОРА ПРИ ПОМОЩИ ЭКСТРЕМОТОЛЕРАНТНЫХ АСПЕРГИЛЛОВ

А.З. Миндубаев, Э.В. Бабынин
ФИЦ КазНЦ РАН

С 2009 года нашим коллективом ведется работа по исследованию биodeградации - в первую очередь, фосфорсодержащих соединений. В первые годы мы работали с осадками сточных вод, имеющих богатый видовой состав микробиоты. Двенадцать лет назад, в октябре 2014 года произошло знаковое событие - выделена экстремотолерантная культура гриба черного аспергилла, превращающая токсичные соединения фосфора в фосфат, который может служить подкормкой для растений. Мы впервые в мире наблюдали биodeградацию аллотропных модификаций элементного фосфора, белого, и красного (рис. 1)

Белый фосфор (технологи чаще используют определение желтый фосфор для вещества технической чистоты) представляет собой один из самых токсичных загрязнителей. Поскольку он применяется в военных целях и крупнотоннажном промышленном производстве, являясь важнейшим звеном производства большинства фосфорсодержащих продуктов, данное вещество проникает в окружающую среду, оказывая на нее негативное воздействие [1].

Однако, элемент фосфор обладает уникальным свойством. Он является чрезвычайно опасным в виде простых веществ и восстановленных соединений. Однако, в виде фосфатов, в полностью окисленном состоянии, это биогенный элемент, необходимый всем формам жизни, включая нас, людей. Поэтому у белого фосфора есть замечательные предпосылки для биodeградации, которая является одним из самых эффективных и современных методов обезвреживания промышленных, бытовых и сельскохозяйственных поллютантов.

Выделен штамм *Aspergillus niger* F-4815D, источником которого стала емкость с белым фосфором, содержавшая жизнеспособные споры [2]. Этот факт является неординарным и демонстрирует поразительную жизнестойкость микроорганизмов. Рост грибов ускоряет окисление белого фосфора в фосфат по сравнению со стерильной средой. Это позволяет создать биологический метод обезвреживания белого фосфора, вещества 1 класса опасности.

Анализ колориметрическим методом показал, что биodeградация белого фосфора действительно имеет место. В идентичных условиях гриб *A. niger* F-4815D достоверно ускоряет окисление белого фосфора до безвредных фосфат-ионов по сравнению с контролем – стерильной средой. Такой показатель эффективности метода.

При воздействии белого фосфора наблюдается резкое изменение морфологии и протеома исследуемых грибов, позволяющее им более эффективно защищаться от токсического воздействия, существовать в загрязненной среде и превращать токсичные загрязнители в компоненты фосфорных удобрений. Интересно, что в декабре 2016 года мы получили дочерний штамм гриба *A. niger* F-4816D. Морфологические изменения - утолщенная клеточная стенка и увеличенные митохондрии у него наблюдаются и в контроле, в отсутствии этого токсичного вещества.

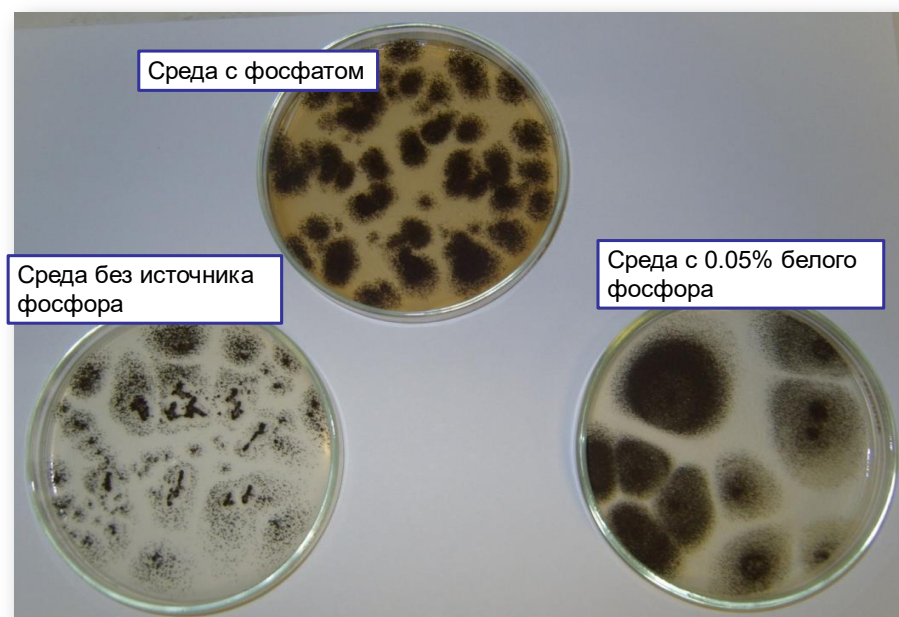


Рисунок 1. Колонии *Aspergillus niger* в среде, содержащей 0.05% белого фосфора. Эта концентрация соответствует 250 ПДК! Место съемки: виварий микробиологической лаборатории ИОФХ. Снимок на цифровой фотоаппарат Samsung, 13 10 2014 г.

До сих пор это первый в мире описанный пример включения белого фосфора в биосферный круговорот фосфора.

Нашей разработкой уже заинтересовались партнеры из Самарского Политеха (СамГТУ), планирующие ликвидацию очагов загрязнения желтым фосфором территории бывшего ОАО "Фосфор" в рамках Стратегии социально-экономического развития Самарской области до 2030 года. Впоследствии мы предполагаем внедрить технологию на шламонакопителях.

Литература

- [1]. Duerksen-Hughes P., Richter P., Ingerman L., Ruoff W., Thampi S., Donkin S. Toxicological profile for white phosphorus // U.S. Department of health and human services. USA. 1997. 248 p.
- [2]. Миндубаев А.З., Бабынин Э.В., Бадеева Е.К., Минзанова С.Т., Миронова Л.Г., Акосах Й.А. Биологическая деградация желтого (белого) фосфора - вещества первого класса опасности // Журнал неорганической химии. 2021. Т.66. №8. С.1137–1142. DOI: 10.31857/S0044457X21080158

АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭНДОФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ АНТИБИОТИКОВ

П. А. Назаров^{1,2}, М. В. Каракозова³

¹ Лаборатория промышленной биотехнологии, НИЦ ТН-БИОТЕХ, Альметьевск, Россия

² НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

³ Институт перспективных исследований, Университет Новый Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Современное промышленное растениеводство столкнулось с серьезной проблемой — стремительным развитием устойчивости фитопатогенов к традиционным пестицидам и коммерческим антибиотикам. (Nazarov et al., 2020) Экологичное земледелие требует новых подходов к защите культур. Одно из решений — поиск защитных микроорганизмов внутри

диких растений-экстремофилов. Растительный микробиом, формирующийся под воздействием постоянного абиотического стресса и жесткой межвидовой конкуренции, служит уникальным источником биологически активных соединений. Целенаправленное использование адаптационного потенциала стрессоустойчивых эндофитных микроорганизмов открывает широкие перспективы для создания новых систем биоконтроля в агробиотехнологии.

Эволюционные основы адаптации микроорганизмов к стрессу. Приспособление эндофитов к экстремальным условиям среды неразрывно связано с глубокой перестройкой их обмена веществ. В ответ на отбор со стороны внешней среды происходит активация скрытых («молчащих») кластеров генов биосинтеза (BGCs) (Nazarov & Karakozova, In press). Эти генетические комплексы регулируют синтез специализированных вторичных метаболитов, обеспечивающих выживание как самого микроорганизма, так и растения-хозяина.

Ярким примером служат симбионты арктических и высокогорных растений родов *Saxifraga* и *Papaver*. Их адаптация к условиям постоянного холода (при температурах ниже 10°C) стимулирует выработку модифицированных нерибосомальных пептидов и поликетидов, сохраняющих пространственную структуру и противомикробные свойства при низких температурах. В свою очередь, приспособление к тепловому шоку, дефициту влаги и высокому осмотическому давлению у пустынных ксерофитов родов *Alhagi*, *Bassia* и *Hyssopus* приводит к естественному отбору штаммов с высокой способностью к синтезу термостойких циклических липопептидов и антибиотиков широкого спектра действия (Akramov et al., 2023; Chebotar et al., 2022, Eshboev et al., 2023).

Перспективы получения новых антибиотиков. В отличие от детально изученных почвенных актиномицетов, эндосфера экстремофильных растений остается малоисследованным источником уникальных антимикробных структур. Микробные симбионты способны продуцировать широкий спектр антибиотиков, которые по механизмам действия разделяют на три ключевые группы: ингибиторы синтеза клеточной стенки, деструкторы цитоплазматических мембран и специфические блокаторы трансляции и транскрипции. Особую ценность для агробиотехнологии представляют циклические липопептиды (сурфактины, итурины, фенгицины) и бактериоцины, вызывающие необратимый лизис клеток патогенов и разрушение клеточных стенок грибов родов *Fusarium*, *Alternaria* и бактерий рода *Clostridium* (Eshboev et al., 2024). Использование современных биоинформационных платформ (в частности, *antiSMASH*) и методов геномного майнинга позволяет идентифицировать новые метаболические пути в геномах стрессоустойчивых эндофитов. Это открывает возможности для их последующей гетерологичной экспрессии в промышленных масштабах.

Интеграция адаптационного потенциала в технологические процессы. Целенаправленное использование стрессоустойчивых штаммов-продуцентов позволяет оптимизировать ключевые процессы в биоиндустрии. При биоконсервации растительного сырья (силосовании и заготовке сенажа) введение эндофитов, адаптированных к температурным колебаниям, обеспечивает стабильное протекание ферментации. Так, штаммы из эндосферы растений рода *Saxifraga* позволяют осуществлять эффективный низкотемпературный запуск процесса, а штаммы из рода *Alhagi* — ферментацию в засушливых (аридных) условиях, одновременно блокируя развитие гнилостной микрофлоры за счет экскреции антибиотических веществ. В текстильной биотехнологии применение эндофитов, сочетающих пектолитическую активность с продукцией антибиотиков, усовершенствует традиционную технологию росяной мочки (мацерации) лубяных культур. Контролируемый микробный гидролиз пектин-целлюлозного матрикса, сопровождающийся подавлением сопутствующих патогенов, обеспечивает высокое качество волокна и предотвращает его порчу микотоксинами.

Биологическая безопасность биопроспектинга. Переход от поиска новых антимикробных соединений к их практическому внедрению в практику органического

земледелия требует строгого контроля биобезопасности. Микробиомы ряда дикорастущих видов содержат скрытые риски, связанные со способностью эндофитов к синтезу токсичных веществ. Так, для ассоциированных с растениями микромицетов характерна выработка опасных микотоксинов (например, патулина или афлатоксинов), а для ряда растений, включая семейство Маковые (*Papaveraceae*), — накопление токсичных алкалоидов (Ray et al., 2019). В связи с этим приоритетным направлением развития агробиотехнологии является обязательное внедрение полногеномного скрининга штаммов-кандидатов. Такой подход полностью исключает попадание опасных метаболитов в конечную агропродукцию и гарантирует селективность противомикробной защиты.

Литература

Akramov I., Axanbayev S., Alikulov B. et al. Plant growth-promoting properties of endophytic bacteria isolated from some xerophytic plants distributed in arid regions (Uzbekistan) // Plant Sci. Today. 2023.

Chebatar V. K., Chizhevskaya E. P., Baganova M. E. et al. Endophytes from halotolerant plants aimed to overcome salinity and draught // Plants. 2022. Vol. 11(21). P. 2992.

Eshboev F., Karakozova M., Abdurakhmanov J. et al. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of the Secondary Metabolites of Endophytic Fungi Isolated from the Medicinal Plant *Hyssopus officinalis* // Antibiotics. 2023. Vol. 12(7). P. 1201.

Eshboev F., Mamadalieva N., Nazarov P. A. et al. Antimicrobial action mechanisms of natural compounds isolated from endophytic microorganisms // Antibiotics. 2024. Vol. 13(3). P. 271.

Nazarov P. A., Baleev D. N., Ivanova M. I., Sokolova L. M., Karakozova M. V. Infectious plant diseases: Etiology, current status, problems and prospects in plant protection // Acta Naturae. 2020. Vol. 12(3). P. 46–59.

Nazarov P.A., Karakozova M.V. New approaches to the production of antibiotics: Antibiotics of plant and endophytic origin and the role of multidrug resistance pumps // Plants and Microorganisms: Biotechnology of the Future / Ed. by A.A. Kamnev. Cambridge Scholars Publishing. **In press.**

Ray T., Pandey S. S., Pandey A., et al. Endophytic consortium with diverse gene-regulating capabilities of benzyloquinoline alkaloids biosynthetic pathway can enhance endogenous morphine biosynthesis in *Papaver somniferum* // Front. Microbiol. 2019. Vol. 10. P. 925.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ СИСТЕМЫ QUORUM SENSING 2 ТИПА В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ

Л.Ю. Нестерова¹, Д.В. Гельцер¹, И В. Цыганов¹, А.Г. Ткаченко¹

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, larisa.nesterova@bk.ru

Quorum sensing (чувство кворума, QS) – способ межклеточной коммуникации бактерий, который зависит от плотности популяции. В его основе лежит продукция клетками сигнальных молекул – аутоиндукторов (АИ), которые экспортируются в среду. При высокой плотности популяции пропорционально количеству клеток увеличивается концентрация АИ в среде, что вызывает индукцию экспрессии специализированного набора генов. Продукты этих генов способствуют быстрой, «согласованной», коллективной адаптации популяции к условиям среды. У бактерий существуют несколько систем, которые функционируют по типу QS. Системы первого типа широко распространены среди грамотрицательных бактерий и в качестве аутоиндукторов используют различные ацилглютамиллактоны. Гены, которые кодируют компоненты системы QS второго типа, обнаружены более чем в половине секвенированных бактериальных геномов. Аутоиндуктором в этой системе выступает АИ-2 (производное дигидроксипентадиона) – который синтезируется продуктом гена *luxS*. Большое внимание исследователей к этой системе обусловлено тем, что АИ-2 синтезируется и воспринимается в качестве сигнальной молекулы многими видами грамотрицательных и грамположительных бактерий, в том

числе патогенных, и регулирует «поведение» бактерий, как на уровне популяций, так и на межвидовом уровне [Lui, 2025]. Отличительной особенностью этой системы является то, что АИ-2 не способен свободно диффундировать через клеточную оболочку, и может попадать в клетку только через специальную транспортную систему [Xavier, Bassler 2005]. Под контролем чувства кворума у разных микроорганизмов находятся такие важные для выживания процессы, как споруляция, синтез бактериоцинов, компетентность, вирулентность, формирование биопленок и др [Mukherjee, Bassler, 2019]. В связи с этим активно ведутся исследования, касающиеся регуляции процессов чувства кворума у разных бактерий. Однако вопрос о влиянии условий внешней среды, в том числе стрессовых, на функционирование систем QS остается открытым.

Цель работы – изучение экспрессии генов системы Quorum sensing 2 типа *Escherichia coli* в различных условиях.

На основе *Escherichia coli* BW25141 нами были сконструированы штаммы KNT1 и KNT3, несущие слияния промоторов генов системы QS-2 *lsoA* (один из компонентов транспортной системы аутоиндуктора) и *luxS* (фермент синтеза АИ-2) со структурной частью индикаторного гена бета-галактозидазы *lacZ*. Создание репортерных слияний проводилось классическим методом трансдукции с использованием рRS551/ лямбдаRS45 системы [Simons, 1987]. Уровень генной экспрессии в клетках генетически модифицированных штаммов *E. coli* оценивали методом Миллера по активности фермента β -галактозидазы. Бактерии культивировали в LB-бульоне («Амresco», США) в колбах Эрленмейера с 50 мл среды в термостатируемом шейкере при 100 об/мин и 37° С. Осмотический стресс воспроизводили внесением в среду NaCl в концентрациях 0,4 М; 0,6 М и 0,8 М. Температурный стресс моделировали изменением температурного режима в термостатируемом шейкере на 30 °, 40 ° и 43 °С. Окислительный стресс воспроизводили двумя способами: добавлением перекиси водорода в концентрациях 0,1 мМ, 0,5 мМ и 1 мМ, а также добавлением параквата в концентрациях 1-100 мкг/мл. Нитрозативный стресс воспроизводили добавкой в среду нитрита натрия в диапазоне концентраций 1-50 мМ при разных значениях рН среды (7,4 и 5,0).

Осмотический стресс вызывал концентрационно зависимое возрастание активности гена *luxS*. При слабом стрессе (снижение оптической плотности культуры (ОП₆₀₀) менее чем на 25%) наблюдалось стимуляция экспрессии гена на 30-54 % относительно контрольной культуры. При умеренной силе стресса (снижение ОП₆₀₀ на 26-50%) увеличение активности происходило на 66-94%. В условиях сильного стресса (снижение ОП₆₀₀ на величину >50 %) активность β -галактозидазы возрастала до 187 % от контроля. При этом статистически значимое возрастание экспрессии гена *lsoA* (на 40-42 %) наблюдалось только при сильном стрессе после 6-7 часов культивирования.

В условиях пероксидного окислительного стресса наблюдалось концентрационно зависимое снижение активности *luxS* начиная с 3 часа культивирования, которое при слабом стрессе составило 15-17 %, а при умеренном достигало 35 %. Супероксидный окислительный стресс приводил к небольшому снижению активности обоих исследуемых генов (в пределах 25 %) при разных силах стресса. Статистически значимые отличия регистрировались начиная с третьего часа культивирования и сохранялись спустя 24 часа.

Повышение температуры культивирования до 40 и 43 °С не приводило к значительному снижению скорости роста культуры: у обоих штаммов ОП₆₀₀ к 12 часу культивирования снижалась не более чем на 8 %. При этом с 1 часа культивирования наблюдалось увеличение активности *luxS*, которое к 12 часу составило 22 и 43 % при 40 и 43 °С соответственно. В то же время экспрессия *lsoA* не менялась при 40 °С и снижалась на 50 % при 43 °С. Повышение температуры до 45 °С вызывало умеренный стресс и сопровождалось полным ингибированием активности обоих исследуемых генов уже к третьему часу культивирования. Снижение температуры культивирования до 30 °С не сказывалось на росте культуры и не влияло на экспрессию *lsoA*, однако в полтора раза снижало активность *luxS*.

Нитрозативный стресс вызывал статистически значимое снижение активности генного слияния *lsrA::lacZ* на 16 и 28 % к третьему и четвертому часу культивирования соответственно при pH среды 7,4. Данный эффект наблюдался в присутствии только максимальной из использованных концентраций – 50 mM NaNO₂, которая вызывала слабый стресс. В условиях закисленной среды (pH 5,0) значимое снижение наблюдалось со второго до восьмого часа в присутствии 20 и 50 mM NaNO₂ (слабый и умеренный стресс соответственно), при этом ингибирование генной экспрессии достигало 29 и 40 % соответственно. Активность гена *luxS* в условиях нитрозативного стресса, вызванного внесением NaNO₂ статистически значимо не менялась.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда и Правительства Пермского края (проект № 26-24-20024).

Литература

- Liu D., Zhang W., Zhu L., Gong J., Huang Y., Li Z., He J. Autoinducer-2 Quorum Sensing is an active universal signaling system in sociomicrobiology // J Basic Microbiol. 2025 Vol. 65. N 7. P. e70024.
- Mukherjee S., Bassler B.L. [Bacterial quorum sensing in complex and dynamically changing environments](#) // Nat Rev Microbiol. 2019. Vol. 17. N 6. P. 371-382.
- Simons R.W., Houtman F., Kleckner N. Improved single and multicopy lac-based cloning vectors for protein and operon fusions // Gene. 1987. Vol. 53 N 1. P. 85 – 96.
- Xavier K.B., Bassler B.L. Regulation of uptake and processing of the quorum-sensing autoinducer AI-2 in *Escherichia coli* // J Bacteriol. 2005. Vol. 87. N 1. P. 238 – 48.

АДАПТАЦИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ШТАММА *LYSOBACTER ANTIBIOTICUS* HZ25 К АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ.

Ю.В. Нурминская, И.С. Петрушин, И.М. Романова, М.С. Каропова, Ю.А. Маркова
СИФИБР СО РАН, Иркутск, julosti@yandex.ru

Мыс Зундук (Западное Прибайкалье) характеризуется резко континентальным аридным климатом с высокой инсоляцией. Почвы – щелочной карболитозём (pH 8,7–9,8) с высоким содержанием Ca²⁺ (>5000 мг/кг) и низким содержанием доступных форм железа и фосфора. Из ризосферы произрастающего на мысе Зундук эндемика *Hedysarum zundukii* Reschkova (копеечника зундукского) выделен штамм *Lysobacter antibioticus* Hz25.

Изучение механизмов адаптации микроорганизмов к экстремальным условиям среды, таким как условия карболитозёмов мыса Зундук, важно для понимания фундаментальных механизмов адаптации живых организмов к стрессовым факторам среды, для сохранения биоразнообразия, а также для развития методов биомониторинга состояния почв и экосистем Байкальского региона. В связи с этим целью работы было исследовать молекулярные механизмы адаптации штамма Hz25 к различным факторам среды.

Геном Hz25 (5,98 Mbp, GC 66,94%, BUSCO 98,9%) в сравнении с ближайшими штаммами содержит 554 уникальных гена (более 10% пангенома), что указывает на высокую геномную пластичность, связанную с адаптацией к местообитанию [Petrushin et al., 2026].

Особенности климата и почвы, а также условия ризосферы, где происходят активные окислительно-восстановительные процессы, в том числе вследствие конкуренции с другими микроорганизмами в условиях ограниченных ресурсов, приводят значительному окислительному стрессу. Штамм Hz25 обладает разветвлённой системой защиты от окислительного стресса, включающую как ферментную (пероксиредоксин, каталаза-пероксидаза HPI и др.), так и глутатионовую системы. Также выявлены специализированные гены детоксикации NO через флавогемоглобин (XLM94930), ген синтеза «organic hydroperoxide resistance protein» (XLM96315.1) – белка, обеспечивающего

устойчивость к органическим гидропероксидам, ген синтеза спермидина (XLM95767.1) и ксантомонадина – арилполиена, защищающего также и от УФ-излучения.

Для изучения устойчивости штамма к пониженным температурам, изучали жирнокислотный состав мембран. Было выявлено что при 25°C соотношение anteiso-15:0 (35.7%) над anteiso-17:0 (18%) у Hz25 равно 1,99, при этом присутствует iso-16:0 (13.29%), что может свидетельствовать о его большей конститутивной устойчивости к пониженным температурам, осмотическому стрессу, низким значениям pH. При этом были выявлены гены синтеза десатураз: классической $\Delta 9$ -ацил-КоА-десатуразы (XLM94285) и модифицирующей мембраносвязанные липиды десатуразы DesA-типа (XLM95767). Наличие белка холодового шока с ТМН-якорем (XLM93645) дополняет адаптацию Hz25 к низким температурам.

Адаптация к железодефициту является одной из наиболее важных для организмов в условиях карболитозёма. Штамм Hz25 обладает системой восстановления и транспорта железа, включающую ферриредуктазу (XLM95524), внешнемембранный цитохром с (XLM97940), FeoAB-систему (XLM93773, XLM93774). Имеются пять TonB-зависимых рецепторов сидерофоров. Выявлен ген рецептора для гема/гемоглобина/трансферрина XLM96840.1. Система хранения железа у Hz25 включает бактериоферритин (XLM94757) и ферредоксин (XLM94758). Кроме того, у штамма выявлены гены синтеза сидерофора лизохелина и важного компонента сидерофоров спермидина (XLM95767.1), при этом сидерофорная активность была подтверждена экспериментально (CAS-тест) [Nurminskaya et al., 2025].

Низкое содержание свободных фосфат-ионов в почве является ещё одним требующим адаптации фактором. Эксперименты показали, что штамм Hz25 способен разрушать $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и таким образом высвобождать фосфат-ионы. Кроме того, в геноме был выявлены гены системы PhoR/PhoB, позволяющей эффективно утилизировать фосфаты при колебаниях их содержания в среде. В геноме также выявлено два гена фосфохолин-специфичной фосфолипазы C (XLM94164.1 и XLM93787.1), разрушающей мембраны бактерий-жертв с высвобождением фосфохолина.

В геноме Hz25 идентифицированы гены, отвечающие за синтез белков, участвующих в связывании кальция (белок с excalibur-доменом XLM94878) и его активном эффлюксе ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ антипортер XLM96556). Кроме того, был выявлен ген, кодирующий локализованную в периплазме β -класс карбоангидразу (XLM93758.1), которая катализирует гидратацию выделяющегося в ходе дыхания CO_2 до HCO_3^- , который в щелочной среде переходит в ионы CO_3^{2-} . Выделяемые наружу ионы CO_3^{2-} могут реагировать с ионами Ca^{2+} , что приводит к формированию карбонатных структур. Было показано, что при выращивании в статичных условиях на минимальной среде с CaCl_2 Hz25 формирует белые биоплёнки, при воздействии на которые раствором HCl происходит растворение CaCO_3 , сопровождающееся выделением пузырьков CO_2 . Таким образом было показано, что Hz25 не только устойчив к высоким концентрациям ионов Ca^{2+} в почве, но и может использовать их для построения биоплёнок, в микронишах которой клетки Hz25 могут создавать условия, более близкие к оптимальным.

Биоплёнка выполняет важную роль защиты от УФ-излучения и засухи. При этом в геноме Hz25 были выявлены все необходимые гены для построения биоплёнки с экзополисахаридами (EPS): система c-di-GMP сигналинга (3 GGDEF, 1 EAL, 2 PilZ), более 40 генов гликозилтрансфераз (GT2, GT4, GT9), 4 гена деацетилаз для модификации EPS. Экспериментально показано, что количество продуцируемых EPS прямо пропорционально содержанию в среде органического азота.

Аналогичная зависимость от содержания органического азота выявлена и для скорости передвижения Hz25 посредством пилей IV типа (синтез пилей: PilA, PilG, PilH, PilM-Q, PilZ-PilB, регуляторы подвижности: PilG XLM94530.1 и PilH XLM97840.1) [Petrushin et al., 2026]. Способность к движению и микрохищническому поведению у Hz25 была экспериментально доказана [Nurminskaya et al., 2025]. Клетки жертв могут служить

для *Lysobacter* основным источником питательных веществ. Следует отметить, что в геноме Hz25 идентифицированы гены хитиназ GH18 и GH19. Дрожжево-литическая металлопептидаза M4 также способствует деградации грибных клеток. Для атаки на клеточные стенки бактерий штамм располагает способностью к синтезу пептидаз B1p и L4 амидазы Ami [Petrushin et al., 2026]. Способность штамма Hz25 разлагать бактериальные и грибные клетки была подтверждена экспериментально [Nurminskaya et al., 2025]. Помимо литических ферментов, геном Hz25 кодирует несколько антимикробных соединений, включая гипептин, лизоцин Е и метаболит, структурно похожий на п-аминобензойную кислоту (пАБК).

Геном Hz25 содержит несколько генов, обычно связанных с устойчивостью к мышьяку (arsN2, arsC, arsR), однако ген *acr3*, кодирующий насос для выведения из клетки арсенита, в геноме отсутствует [Petrushin et al., 2026]. Присутствие в геноме Hz25 *arsC*, *arsR* и *arsN2* в сочетании с отсутствием *acr3* и *arsH* показывают неспособность Hz25 к детоксикации мышьяка. Это согласуется с низким содержанием мышьяка в почве (0,21 мг/кг). Продукты выявленных генов, очевидно, выполняют другие функции. Так, например, *ArsC* (арсенат-редуктаза) принадлежит к семейству белков, которые участвуют в реакции на дисульфидный стресс, а *ArsH* является НАДФН-зависимой хинонредуктазой, защищающей от окислительного стресса, вызванного менадионом и другими хинонами.

К интегративным механизмам адаптации Hz25 можно отнести двухкомпонентные системы регуляции: CreC/CreB, PhoR/PhoB, NahK/ErcS, сигнальную систему DSF (RpfF), систему c-di-GMP. Выявленные LuxR-регуляторы являются ключевыми компонентами чувства кворума (QS).

Таким образом, можно заключить, что штамм *L. antibioticus* Hz25 обладает системой адаптации к экстремальным условиям карболитозёмов, которая включает: конститутивную психротолерантность за счёт *anteiso*-ЖК и двух десатураз; эффективные системы усвоения железа и фосфора; устойчивость к высокому содержанию Ca^{2+} с формированием карбонатных биоплёнок; подвижность посредством пилей IV типа и литический аппарат, управляемые доступностью органического азота.

Данная работа вносит вклад в изучение молекулярных механизмов взаимодействия систем адаптации и исследование эволюционной пластичности адаптационных систем, а также позволяет прогнозировать применение штамма Hz25 в биоремедиации.

Литература

Nurminskaya Y.V., Petrushin I.S., Karepova M.S., Markova, Y.A. Characterization of *Lysobacter* sp. Strain Hz25 Isolated from the Rhizosphere of the Endemic Baikal Plant *Hedysarum zundukii* (Fabaceae) //Microbiology. – 2025. – Т. 94. – №. Suppl 1. – С. S112-S116.

Petrushin I.S., Nurminskaya Y.V., Markova Y.A. Genomic faeatures of the micropredator *Lysobacter* sp. Hz25 isolated from the rhizosphere of *Hedysarum zundukii* //International Journal of Molecular Sciences. 2026. Т. 27. №. 9. С. 3800.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНА НА УСТОЙЧИВОСТЬ МИКОБАКТЕРИЙ К ОКИСЛИТЕЛЬНОМУ СТРЕССУ

Н. П. Осовских, Е.А. Банковский, К.В. Голдобин, М. О. Шлеева
ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский пр. 33, стр. 2,
osovskichkolya@gmail.com

Селеноцистеин (Sec, U) — протеиногенная аминокислота, содержащая атом селена (Se) в составе боковой цепи. Она кодируется стоп-кодоном UGA и синтезируется путём ферментативного замещения гидроксильной группы серина на селен, который переносится с селенофосфата [Varlamova, 2013]. Селеноцистеин характеризуется более высокой кислотностью по сравнению с цистеином. Значения pKa для его селеноловой (SeH), карбоксильной и аминогрупп составляют 5,24, 2,01 и 9,96 соответственно [Huber & Criddle,

1967]. Это обеспечивает депротонирование селеноловой группы при физиологическом pH, что определяет его повышенную нуклеофильность и реакционную способность. Вследствие этих свойств селеноцистеин проявляет выраженную антиоксидантную и каталитическую активность и входит в состав активных центров таких ферментов, как глутатионпероксидаза (GPx) и тиоредоксинредуктаза (TrxR), участвующих в защите клетки от активных форм кислорода (АФК) [Meghomukta Mukherjee, 2022].

При попадании в организм хозяина патогенные бактерии подвергаются воздействию эффекторных механизмов иммунной системы. В частности, макрофаги и нейтрофилы продуцируют АФК, конечным продуктом синтеза которых является гипохлорит (ClO^-). Целью данной работы явилось исследование влияния селенита (SeO_3^{2-}) в составе питательной среды на выживаемость *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium tuberculosis* при воздействии гипохлорита.

Методы. Культуры *M. smegmatis* и *M. tuberculosis* выращивали в жидкой среде Middlebrook 7H9 Broth, приготовленной на деионизированной воде для минимизации фонового поступления селена. В опытные образцы вносили 20 μM селенита натрия (Na_2SeO_3), контрольные образцы селенита не содержали. Инкубацию проводили в течение 48 часов. После стандартизации культур до оптической плотности $\text{OD}_{600} = 0,1$ клетки экспонировали с возрастающими концентрациями гипохлорита в течение 15 минут. Жизнеспособность бактерий оценивали методом подсчёта колониеобразующих единиц (КОЕ): готовили серийные десятикратные разведения, из которых одинаковый объём высевали на агаризованную среду Middlebrook 7H9 и инкубировали в течение 7 суток. Выживаемость определяли как отношение КОЕ в опытных образцах к КОЕ в контрольных образцах (без гипохлорита, с тем же содержанием селенита).

Результаты. Предварительное культивирование микобактерий в присутствии 20 мкМ селенита натрия приводило к значительному повышению выживаемости обоих видов после воздействия гипохлорита по сравнению с контрольными культурами (без селенита).

Для *M. smegmatis* выраженный защитный эффект наблюдался при концентрации гипохлорита 0,01 мкМ. КОЕ в контрольной группе составило $1,7 \times 10^4$ кл/мл, тогда как в опытной группе было выше в 235 раз ($4,0 \times 10^6$ кл/мл). При более высоких концентрациях гипохлорита (0,05 и 0,1 мкМ) колонии в контрольных образцах отсутствовали, тогда как в образцах, выращенных с селенитом, КОЕ составляло $1,7 \times 10^6$ и $1,3 \times 10^6$ кл/мл соответственно.

Для *M. tuberculosis* при концентрации гипохлорита 0,05 мкМ КОЕ в контроле составило $1,0 \times 10^4$ кл/мл, а в присутствии селенита было выше в 130 раз ($1,3 \times 10^6$ кл/мл). При концентрации 0,1 мкМ соответствующие значения были $1,0 \times 10^5$ и $1,0 \times 10^7$ кл/мл.

M. smegmatis полностью погибает при 0,05 мкМ гипохлорита. В то же время *M. tuberculosis* при этой же концентрации не только выживает, но и демонстрирует довольно высокий титр клеток. При увеличении концентрации вдвое (до 0,1 мкМ) *M. tuberculosis* всё ещё имеет значительную выживаемость ($1,0 \times 10^5$ КОЕ/мл). Это прямо указывает на то, что базовая устойчивость *M. tuberculosis* к окислительному стрессу, вызванному гипохлоритом, выше, чем у *M. smegmatis*.

Выводы. Культивирование *M. smegmatis* и *M. tuberculosis* в присутствии 20 мкМ селенита натрия значительно повышает устойчивость бактерий к окислительному стрессу, индуцированному гипохлоритом. Защитный эффект наиболее выражен для *M. smegmatis* (выживаемость сохранялась при концентрациях ClO^- , полностью инактивирующих контрольные культуры) и в меньшей степени для *M. tuberculosis* (кратность защиты снижалась с 130 до 15 раз при возрастании концентрации окислителя). Без обработки селеном *M. tuberculosis* демонстрирует значительно более высокую базовую устойчивость к гипохлориту по сравнению с *M. smegmatis*, что отражает их экологические и патогенетические различия. Полученные данные свидетельствуют о важной роли селена в формировании антиоксидантной защиты микобактерий против активных форм кислорода, продуцируемых клетками иммунной системы хозяина.

Литература

Huber, R.E., & Criddle, R.S. (1967). Comparison of the chemical properties of selenocysteine and selenocystine with their sulfur analogs. Archives of Biochemistry and Biophysics, 122(1), 164–173. DOI: 10.1016/0003-9861(67)90136-1

Meghomukta Mukherjee, AnjuSreelatha. Chapter Twelve-Identification of selenoprotein O substrates using a biotinylated ATP analog//Methods in Enzymology. 2022. Vol. 662. P. 275-296

Varlamova, E.G., Goltyaev, M.V., Novoselov, S.V. et al. Selenocysteine biosynthesis and mechanism of incorporation into growing proteins//Mol Biol. 2013. Vol. 47. P. 488–495

МЕТАБОЛОМ ПУРПУРНЫХ НЕСЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В РАЗНЫХ УСЛОВИЯХ РОСТА НА СРЕДАХ С МАЛАТОМ И АЦЕТАТОМ

Е.П. Петушкова, О.П. Сердюк, Е.В. Майорова

Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, г. Пущино, Россия, e-mail: peteka2008@gmail.com, serdyuko@rambler.ru, ekaterina.majorova.97@mail.ru,

Rba. capsulatus имеет генетический потенциал для нескольких путей восполнения пула интермедиатов ЦТК. Причем некоторые из них одновременно экспрессируются этой бактерией в фотогетеротрофных условиях с использованием ацетата в качестве единственного источника углерода (Петушкова 2017). Целью исследований было изучение на уровне метаболитов ферментативных путей, активных при ассимиляции ацетата культурами *Rba. capsulatus*. Для этого проведен сравнительный анализ метаболитов ЦТК (сукцината, фумарата, малата, цитрата, изоцитрата и глутаминовой кислоты, образующейся из 2-оксоглутарата ЦТК) и путей синтеза глюкозы (глюконеогенеза и цикла Кальвина-Бенсона-Бессэма: анализировали присутствие пирувата, фруктозобисфосфата, глюкозо-6-фосфата, рибулозобисфосфата, глюкозы), а также поисковый анализ метаболитов в образцах культур *Rba. capsulatus* при разных условиях выращивания. Культивирование проводили фототрофно анаэробно при низкой интенсивности света или аэробно в темноте на минимальных средах Ормерода, содержащих ацетат или малат (промежуточный интермедиат ЦТК, при наличии которого анаплеротические реакции клетке не требуются). Для хроматографического разделения соединений использовали капиллярную колонку CR-Xi-5-ms (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм; Хроматэк, Россия), работы выполнялась на хроматографе Хроматэк Кристалл-5000, оснащенном масс-детектором. Дериватизировали соединения в образце для перевода их в летучую форму с использованием метоксиамины гидроклорида в пиридине и MSTFA.

В экспериментах на агаризованных средах выявлено, что основным отличием в профилях исследуемых соединений у культур *Rba. capsulatus*, росших в анаэробных фототрофных условиях, как на среде с малатом, так и с ацетатом, при сравнении с аэробными культурами, является наличие D-цитрамалата. Его присутствие может указывать на функционирование в клетках альтернативного пути синтеза изолейцина, который обеспечивает синтез некоторых аминокислот без оттока интермедиатов из ЦТК. Ключевыми ферментами данного пути являются пируватсинтаза (катализирует образование пирувата из ацетил-КоА и CO₂ и функционирует только в бескислородных условиях) и цитрамалатсинтаза (катализирует синтез цитрамалата из пирувата и ацетил-КоА). При этом наличие в фототрофных анаэробных культурах таких промежуточных

звеньев ЦТК, как цитрат, изоцитрат, малат и образующаяся, по-видимому, из альфа-кетоглутарата (он же 2-оксоглутарат) глутаминовая кислота, указывает на активность анаболической части реакций ЦТК, восполняемой за счет имеющихся у бактерии анаэробных путей.

В аэробных условиях на твердых средах метаболический профиль культур *Rba. capsulatus* отличается наличием сукцината. Его образование возможно из ацетил-КоА в анаэробном глиоксилатном цикле или с участием этилмалонил-КоА пути. В последнем, наряду с глиоксилатом, синтезируется пропионил-КоА, который через метилмалонил-КоА путь превращается в сукцинил-КоА (и далее сукцинат).

Для повышения чувствительности анализа использовавшееся ранее сканирование ионов в масс-детекторе во всем диапазоне масс (от 50 до 850 m/z) было дополнено (и может быть в дальнейшем полностью заменено) непродолжительным сканированием в соответствии с выбранными основными ионами анализируемого соединения, которые образуются при фрагментации основного иона электронным ударом, в промежуток времени, соответствующий времени удержания вещества на хроматографической колонке (T-Sim-анализ). Проведен анализ культур, выращенных в аэробных и анаэробных условиях роста на жидких средах с малатом или ацетатом, отобранных для анализа в экспоненциальной фазе роста после второго пересева в экспериментальные условия (после полного исчерпания запасных веществ и компонентов среды, перенесенных вместе с инокулятом). Известно, что активный рост культур пурпурных несерных бактерий при высокой интенсивности света в анаэробных условиях при переходе на ростовую среду с ацетатом в качестве единственного органического субстрата возможен только при наличии активных анаэробных путей. До их активации наблюдается лаг-период в росте. Предполагалось, что при культивировании бактерий в условиях высокой освещенности (80 Вт/м²) на среде с ацетатом, избавленной от кислорода и СО₂, будут более выражены СО₂/бикарбонат-независимые анаэробные пути, такие как глиоксилатный шунт. Ранее было показано, что при увеличении интенсивности падающего света скорость роста ИЦЛ+ *Rba. capsulatus* В10 возрастала и одновременно увеличивалась активность ключевого фермента глиоксилатного шунта, изоцитратлиазы (Петушкова 2017). В текущих экспериментах выход в стационарную фазу роста после второго пересева на среду с ацетатом в фототрофных условиях наступал быстрее (менее чем через 20 ч при начальной ОП650 0,1 о.е.), в то время как при интенсивности света 40 Вт/м² это время составляло около 24 часов.

Основным отличием в метаболических профилях фототрофных культур, росших при высоких интенсивностях света, является отсутствие промежуточных соединений окислительной части ЦТК, таких как альфа-кетоглутарат и образующейся из него глутаминовой кислоты, а также повышение активности цикла Кальвина-Бенсона-Бэссэма, которое сопровождается увеличением на порядок (по сравнению с аэробными культурами) количества рибулозо-бисфосфата. Значимым отличием анализируемых фототрофных культур по сравнению с хемоорганотрофными и фототрофными, росшими при низкой интенсивности света, является отсутствие пирувата и малата в спектре обнаруживаемых метаболитов. Можно предположить, что пируват в анаэробных фототрофных условиях быстро метаболизируется в треонин-независимом пути синтеза изолейцина, что подтверждается присутствием его промежуточного метаболита – цитрамалата, который отсутствует в аэробных культурах.

Работа выполнена в рамках ГЗ №125051305944-7.

Литература

Петушкова, Е. П. Ассимиляция ацетата пурпурной несерной бактерией *Rhodobacter capsulatus* В10 : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.03 / Петушкова Екатерина Павловна, 2018. 132 с.

АКТИВАЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ БЕЛКАМИ LysR-СЕМЕЙСТВА НА ПРИМЕРЕ РЕГУЛЯТОРА ГЕНОВ КАТАБОЛИЗМА САЛИЦИЛАТА SgpR

И.Ю. Позднякова-Филатова, М.В. Захарова

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина - обособленное
подразделение ФИЦ Пущинский научный центр биологических исследований РАН,
Пущино, irafilatova24@gmail.com

Регуляторные белки LysR-семейства (LTTR) широко распространены среди бактерий, архей и водорослей и являются как специфическими, так и плеiotропными факторами транскрипции. Функционируют они как тетрамеры, взаимодействуя с двумя участками ДНК, которые называют RBS (repression binding site) и ABS (activation binding site). Участок RBS (1) расположен upstream -35 сайта промотора LTTR-зависимых генов, (2) содержит вырожденный палиндром T-N11-A, (3) необходим и достаточен для образования комплекса с LTTR *in vitro*. Участок ABS (1) перекрывается с -35 сайтом промотора, (2) не содержит характерного вырожденного палиндрома, (3) в отсутствии RBS не способен образовывать комплекс с LTTR. Двойственная функция LTTR проявляется в том, что в отсутствии эффектора они конкурируют с РНКП за место связывания, фактически являясь репрессором, однако в присутствии эффектора становятся активаторами II типа, поскольку способствуют формированию закрытого комплекса “РНКП-промотор”. Характерное расположение функциональных элементов регуляторной области позволяют предположить наличие конститутивной экспрессии подконтрольных генов в отсутствии регуляторного белка и эффектора. Штаммы, в которых удален регуляторный ген, не способны к индуцибельной экспрессии генов, однако оценить потенциальное наличие конститутивной экспрессии невозможно из-за присутствия дивергентно расположенного сильного промотора регуляторного гена.

Гены *sgpA* *AIKGHB* *P.putida* AK5 участвуют в катаболизме салицилата: *sgpA* кодирует ферредоксин-НАДФ⁺-редуктазу, *sgpB* - 2Fe-2S ферредоксин, *sgpG* и *sgpH* - большую и малую субъединицы оксигеназного компонента салицилат-5-гидроксилазы, *sgpI* - гентизат 1,2-диоксигеназу, *sgpK* - фумарил-пируват гидролазу. Регуляторный ген *sgpR* транскрибируется дивергентно относительно генов оперона. Сайт связывания белка SgpR перекрывается с -10 и -35 боксом промотора гена *sgpR*, -35 бокс промотора регуляторного гена перекрывается с -35 боксом промотора *sgp*-оперона. Для того, чтобы оценить наличие конститутивной экспрессии генов оперона, были сконструированы следующие штаммы: в *P.putida* AK5dS отсутствовал регуляторный ген, но присутствовал и промотор регуляторного гена, и промотор оперона; в *P.putida* AK5dSP отсутствовал и регуляторный ген, и -10 бокс промотора регуляторного гена; в *P.putida* AK5dSPP отсутствовал и регуляторный ген, и промотор регуляторного гена, и промотор оперона (рисунок 1).

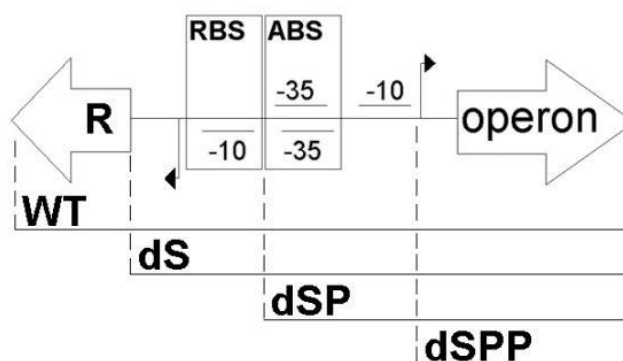


Рисунок 1. Схема регуляторной области *sgp*-оперона. R – регуляторный ген *sgpR*, operon – *sgp*-оперон, RBS и ABS - сайты связывания регуляторного белка SgpR,

**-10 и -35 – консервативные элементы промоторов, WT, dS, dSP, dSP – отличия
в регуляторных элементах межгенной области, между штаммом дикого типа
и мутантными штаммами.**

И штамм дикого типа, и мутантные штаммы были способны к росту на нафталине: колонии wt и dSP на твердой среде EvansPM были одинакового крупного размера, в то время как колонии dS и dSPP были на порядок мельче, что, по-видимому, происходит из-за накопления салицилата, который оказывает бактериостатический эффект на клетки бактерий. Лаг-фаза при росте на жидкой среде EvansPM с нафталином, в качестве единственного источника углерода, у штамма дикого типа длилась 14 часов, в то время как у мутантных вариантов dS и dSPP 38 и 32 часа соответственно, что может указывать на менее эффективную трансформацию субстрата и ингибирование продуктами метаболизма. Лаг-фаза у штамма с предполагаемой конститутивной экспрессией генов *sgp*-оперона dSP составила 20 часов. Штамм дикого типа и мутантный вариант dSP имели одинаковую скорость роста, в то время как скорость роста у мутантных вариантов dS и dSPP была значительно ниже.

В отсутствии конкурирующего промотора регуляторного гена мы наблюдаем отсутствие ингибирующего эффекта продуктами метаболизма нафталина (предположительно салицилата), что может указывать на наличие изменений в экспрессии генов *sgp*-оперона.

Мы исследовали топологию комплекса SgpR-DNA, используя и ДНКазный, и перманганатный футпринт, что позволило обнаружить одноцепочечные участки в районе RBS. Мы совместили данные футпринтов с трехмерной структурой ДНК и обнаружили, что -10 и -35 боксы промотора SgpR-зависимых генов расположены на одной стороне спирали, белок SgpR расположен по другую сторону спирали, а его взаимодействие с ДНК изгибает ее таким образом, что -10 и -35 боксы оказываются недоступны для РНКП, поскольку располагаются не на одной прямой. Добавление эффектора, салицилат-иона, к комплексу SgpR-RNAP-DNA сокращало протяженность расплавленного участка, что, по-видимому, связано с релаксацией изгиба ДНК. Это является ключевым этапом образования закрытого комплекса, поскольку в этот момент -10 и -35 боксы оказываются корректно позиционированы друг относительно друга.

Работа выполнена в рамках государственного задания FMRM-2022-002.

**ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ НОКАРДИОФОРМНЫХ АКТИНОМИЦЕТОВ
RHODOCOCUS НА ВОЗДЕЙСТВИЕ КЕТОПРОФЕНА: ОТ СТРЕССА К
БИОДЕСТРУКЦИИ ФАРМПОЛЛЮТАНТА**

М.А. Польшгалов^{1,2}, И.Б. Ившина^{1,2}

¹Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, e-mail: ivshina@iegm.ru

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, e-mail: mareys@gmail.com

Фармацевтическое загрязнение окружающей среды нестероидными противовоспалительными средствами (НПВС) признано новой глобальной экологической проблемой, угрожающей человеку и биоте [Ivshina, 2025] Кетопрофен — один из наиболее часто обнаруживаемых НПВС в водных экосистемах, чья биodeградация в окружающей среде остается недостаточно изученной [Tyumina *et al.*, 2023]. Нокардиоформные актиномицеты рода *Rhodococcus*, известные своей метаболической пластичностью и способностью трансформировать разнообразные ксенобиотики [Ivshina *et al.*, 2022],

представляют собой перспективную модель для исследования бактериальных ответов на данный фармацевтический загрязнитель.

Цель настоящей работы – изучение ответных реакций нокардиоформных актиномицетов *Rhodococcus* на воздействие кетопрофена.

Объектами исследования служили штаммы актиномицетов из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, #285 WFCC, <http://www.iegmccl.ru/>). В экспериментах использовали жидкую минеральную среду RS и фосфатный буфер с добавлением раствора микроэлементов по Постгейту. В качестве дополнительного источника углерода и энергии применяли *n*-гексадекан в концентрации 0,1 об. %, а инокулята – бактериальные клетки, предварительно выращенные в течение трех сут в мясопептонном бульоне, до концентрации 10^6 кл/мл. Эксперименты по биодеструкции кетопрофена проводили в условиях периодического культивирования (160 об/мин, 28°C) в колбах Эрленмейера вместимостью 250 мл с объемом среды 100 мл, содержащей 10 мкг/л или 10 нг/л кетопрофена. В качестве абиотического контроля использовали стерильный раствор кетопрофена в минеральной среде RS.

Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) кетопрофена в отношении актиномицетов проводили методом двукратного разведения в бульоне LB с использованием стандартных 96-луночных полистироловых планшетов. По нашим данным, значения МПК кетопрофена для тестируемых штаммов варьировали от 0,3125 до >2,5 г/л. Максимальную резистентность (МПК $\geq$ 2,5 г/л) проявлял штамм *R. qingshengii* ИЭГМ 746, что послужило основанием для его выбора в качестве модельного объекта в последующих экспериментах.

Респираторную активность клеток измеряли с помощью высокочувствительного 10-канального респирометра Micro-Oxymax® (Columbus Instruments, США). Воздействие кетопрофена индуцировало развитие окислительного стресса, что проявлялось в существенном увеличении скорости потребления кислорода клетками ИЭГМ 746 в 1,78 раза: средние значения составляли 13768,7 мкл/ч в присутствии кетопрофена против 7712,9 мкл/ч в контроле.

Морфологию и топографию поверхности клеток исследовали с помощью атомно-силового микроскопа (AFM) Asylum MFP-3D-BIO™ (Asylum Research Inc., США) и просвечивающего электронного микроскопа в сочетании с энергодисперсионным рентгеновским анализом (TEM-EDX) на микроскопе JEM-1400 (Japanese Electron Optics Laboratory, Tokyo, Japan), оснащенный системой EDXA (Inca Energy-350, Oxford Instruments, Abingdon, United Kingdom). Под влиянием кетопрофена на 7-е сут культивирования фиксировали достоверное уменьшение размеров бактериальных клеток: длины в 2,3 раза (с 2,8 до 1,2 мкм) и ширины в 1,3 раза (с 1,15 до 0,9 мкм). При этом отношение площади поверхности к объему (S/V) увеличилось в 1,43 раза, что способствует более эффективному контакту с гидрофобным субстратом. По данным сканирующей атомно-силовой микроскопии, поверхность клеток становилась более шероховатой, наблюдалось образование внеклеточной жидкости (предположительно, биосурфактанта) и формирование обособленных многоклеточных конгломератов, что отражает усиление степени гидрофобности клеточной стенки бактерий. Просвечивающая электронная микроскопия позволила выявить накопление внутриклеточных нейтральных липидов в форме электронно-прозрачных капель, которые служат, по-видимому, в качестве своеобразного депо углерода, а также участвуют в антиоксидантной защите клеток [Zhang *et al.*, 2017].

Анализ элементного состава продемонстрировал обеднение клеток, культивированных в присутствии кетопрофена, жизненно важными элементами: содержание углерода снижалось с 83 до 73%, азота — с 4,33 до 1,53%, фосфора — с 0,63 до 0,4%, серы — с 0,2 до 0,1%. Одновременно происходил выход калия, уменьшение содержания которого составляло с 0,53 до 0,24%. Это служит индикатором стрессового

повреждения клеточных мембран. Увеличение содержания кислорода с 10,66 до 18,96% подтверждало развитие окислительного стресса.

Для измерения электрокинетического дзета-потенциала использовали анализатор ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instruments, Великобритания). Воздействие кетопрофена вызвало статистически значимый сдвиг дзета-потенциала в сторону увеличения показателя отрицательного заряда: с $-4,71 \pm 0,13$ мВ в контроле до $-24,03 \pm 0,16$ мВ в опыте. Возрастание абсолютной величины электрокинетического потенциала свидетельствует о повышении стабильности клеточной суспензии и, вероятно, связано с перестройкой липидных компонентов клеточной стенки, в частности миколовых кислот.

Таким образом, штамм *R. qingshengii* ИЭГМ 746, изолированный из нефтезагрязнённой почвы, обладает высокой устойчивостью (МПК $\geq 2,5$ г/л) к кетопрофену. Воздействие фармпollютанта индуцирует у родококков комплекс адаптивных реакций, включающих активацию дыхательного метаболизма, выраженное изменение размера клеток, увеличение S/V, повышение степени шероховатости, формирование многоклеточных агрегатов, накопление липидных включений, изменение элементного состава и дзета-потенциала. Выявленные механизмы адаптации позволяют рассматривать *R. qingshengii* ИЭГМ 746 как перспективный штамм для биоремедиации сточных вод, загрязнённых кетопрофеном.

Исследования выполнены в рамках ГЗ Минобрнауки РФ (тема № 124020500028-4).

Литература

Ivshina I.B., Bazhutin G.A., Tyumina E.A. *Rhodococcus* strains as a good biotool for neutralizing pharmaceutical pollutants and obtaining therapeutically valuable products: Through the past into the future // *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. Article 967127.

Ivshina I.B. Pharmaceuticals in the environment: Current state of research and overcoming collective problems // *Russian Journal of Ecology*. 2025. Vol. 56. P. 265–289.

Tyumina E.A., Subbotina M., Polygalov M., Tyan S., Ivshina I. Ketoprofen as an emerging contaminant: occurrence, ecotoxicity and (bio)removal // *Frontiers in Microbiology*. 2023. Vol. 14. Article 1200108.

Zhang C., Yang L., Ding Y., Wang Y., Lan L., Ma Q., Chi X., Wei P., Zhao Y., Steinbüchel A., Zhang H., Liu P. Bacterial lipid droplets bind to DNA via an intermediary protein that enhances survival under stress // *Nature Communications*. 2017. Vol. 8. Article 15979.

ТРАНСКРИПТОМНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ У ОБЛИГАТНОГО МЕТАНОТРОФА *METHYLOTUVIMICROBIUM ALCALIPHILUM* ПРИ ДЕФИЦИТЕ АЗОТА О.Н. Розова^{1*}, С.Ю. Бут¹, К.С. Шавкунов², М.Н. Шустова¹, Л.Д. Лещенко^{1,3}, В.Н. Хмеленина¹, И.И. Мустахимов¹

¹Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ИБФМ РАН, Пущино, Россия,
rozovaolga1@rambler.ru

²Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», ИБК РАН, Пущино, Московская область, Россия

³Пушкинский филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Пущино, Россия

Галоалкалофильный облигатный метанотроф *Methyloviummicrobium alcaliphilum* 20Z растет на метане как единственном источнике углерода и энергии. В качестве источника азота использует нитрат, реализуя ассимиляционное восстановление нитрата до NH₃ с

образованием нитрита в качестве промежуточного соединения. Ключевыми ферментами данного процесса являются цитоплазматическая нитратредуктаза *Nas* и нитритредуктаза. В связи с увеличением рисков глобального потепления климата интерес к данной группе бактерий значительно возрос за последнее десятилетие. *M. alcaliphilum* 20Z является модельным организмом как для изучения основ метанотрофии, так и, в следствии отработанной методики внесения безмаркеновых мутаций, получения штаммов-продуцентов различных веществ высокой добавочной стоимости. Однако получение конкурентноспособных штаммов-продуцентов без детального понимания метаболизма невозможно. В данной работе в качестве фактора воздействия на метаболизм был выбран дефицит азота.

Проведенный нами дифференциальный экспрессионный анализ выявил, что в штамме дикого типа (20Z), выращенного в условиях лимита по азоту, изменяется экспрессия порядка 815 генов ($p_{adj} \leq 0.01$) в сравнении с этим же штаммом, выращенным в условии избытка азота. При этом снижение экспрессии в 2 раза и более выявлено у 275 генов ($\log_2 \text{fold change} \leq -1$, $p_{adj} \leq 0.01$). В 4-13 раз снизилась экспрессия генов, кодирующих предполагаемый транспортер нитрата (MEALZ_2282-2285). Данное снижение является логичным ответом на низкое содержание нитрата в среде. Также почти в 7 раз снизилась экспрессия гена, аннотируемого как транспортер формиата/нитрата (MEALZ_1280). Вероятно, кодируемый им транспортер тоже принимает активное участие в транспорте нитрата. Ген *nasA*, предполагаемой нитратредуктазы (MEALZ_2287), не изменил своей экспрессии, также, как и ген MEALZ_2286, аннотируемый как ФАД-зависимая пиридиннуклеотид-дисульфид-оксидоредуктаза, предполагаемая субъединица нитратредуктазы. Известно, что многие нитратредуктазы имеют ФАД-связывающий центр, учитывая расположение данного гена в непосредственной близости от гена *nasA* и генов транспорта нитратов, высока вероятность его участия в азотном метаболизме штамма 20Z. С другой стороны, оба гена MEALZ_2286 и MEALZ_2287 имеют весьма низкую экспрессию, однако, протеомные исследования обнаруживают нитратредуктазу (MEALZ_2287) и не обнаруживают фермент MEALZ_2286. Интересно, облигатный метанотроф *Methylomicrobium album* BG8, также растущий на нитрате, вообще не имеет гомологов генов MEALZ_2286 и MEALZ_2287. Ген *nirB* (MEALZ_1275), кодирующий большую субъединицу нитритредуктазы, снизил свою экспрессию почти в 3 раза. Данный ген демонстрирует на порядок выше уровень экспрессии, чем гены, предполагаемой нитратредуктазы.

Неожиданным стало повышение в 3-37 раз экспрессии генов ферментов, реакции которых протекают с высвобождением аммиака, а именно: орнитинциклодиаминазы, гуаниндиаминазы и никотинамидазы. То есть, в условии дефицита источника азота в виде нитрата клетка получает азот в виде аммиака из внутренних ресурсов. В транскриптоме обнаружено в 2 раза увеличение экспрессии генов *cytS* и *sur*, кодирующие цитохромы $c'-\beta$ и P460. Ранее у метанотрофов было показано участие данных цитохромов в метаболизме (в нитрификации) NH_3 . Аммиак неспецифично реагирует с мембрансвязанной метанмонооксигеназой (мММО), окисляющей метан до метанола и являющейся определяющим ферментом метанотрофии. При окислении аммиака мММО образуется токсичное соединение гидроксиламин (NH_2OH), в нейтрализации которого участвуют NH_2OH -оксидоредуктаза (ГАО) и/или цитохром P460 (Campbell et al., 2011; Adams et al., 2019). Гены *haoAB*, кодирующие ГАО (MEALZ_1830 и MEALZ_1831), не изменили своей экспрессии. В результате окисления гидроксиламина ГАО образуется оксид азота NO, являющийся субстратом для цитохрома $c'-\beta$, повышение экспрессии гена которого было обнаружено в транскриптоме. Также образующийся NO неферментативно, в присутствии кислорода может окисляться до NO_2^- (Caranto et al., 2018). ГАО является мультигемовым фермент, содержа восемь гемов c-типа на субъединицу. Цитохромы $c'-\beta$ и P460 также содержат гем в своей структуре. В транскриптоме обнаружено увеличение в 2-14 раз экспрессии четырех генов, кодирующих ферменты пути синтеза гема.

Помимо генов азотного метаболизма, снизилась экспрессия генов C1-метаболизма, видимо, вследствие снижения интенсивности метаболизма (уменьшения скорости роста из-за нехватки азота). Снизилась экспрессия восьми генов, участвующих в созревании активной метанолдегидрогеназы, окисляющей метанол до формальдегида. Также снизилась экспрессия генов, кодирующие ферменты тетрагидрометанооптеринового пути – окисляющего формальдегид до формиата, и гена *fdhA*, кодирующего α -субъединицу формиатдегидрогеназы, окисляющей формиат до CO₂. Перечисленные ферменты у метанотрофов вносят существенный вклад в энергетический метаболизм, поставляя восстановленные эквиваленты или создавая протонный градиент для синтеза АТФ. Гены Na⁺-транслоцирующей НАДН-хинонредуктазы и АТФ-синтазы также снизили экспрессию.

Помимо генов энергетического метаболизма, снизилась экспрессия генов ассимиляционного рибулозомонофосфатного пути, включая ген *hps*, кодирующего гексулозофосфатсинтазу – ключевого фермента ассимиляции формальдегида, гены гликолиза и пентозофосфатного пути, ведущего к регенерации рибулозо-5-фосфата – акцептора формальдегида. Интересно, гены, кодирующие две негомологичные фосфоглюкомутазы и пируваткиназу, наоборот, увеличили экспрессию в 3-6 раз, что коррелирует с увеличением экспрессии генов синтеза фосфолипидов и жирных кислот.

Обнаружено снижение экспрессии генов деградации эктоина – ключевого осмопротектора у *M. alcaliphilum* 20Z, и увеличение экспрессии гена эктоинсинтазы, что может указывать на повышение содержания эктоина в клетке. В данном случае эктоин, видимо, участвует в защите клетки от стресса, вызванного не изменением солевого давления, а дефицитом азота.

В данной работе впервые рассмотрены фундаментальные аспекты ассимиляции азота у галоалкалофильного метанотрофа и заложена основа для дальнейших исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 25-24-00496.

ОСОБЕННОСТИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО ПРОФИЛЯ ШТАММА *LYSOBACTER ANTIBIOTICUS* Hz25 КАК СПОСОБ СУЩЕСТВОВАНИЯ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Романова И.М., Нурминская Ю.В., Маркова Ю.А., Граскова И.А.
СИФИБР СО РАН, г. Иркутск, irina170885@mail.ru

Представители рода *Lysobacter* известны как продуценты литических ферментов и антимикробных метаболитов. Это грамотрицательные палочки, микрохищники, играющие важную роль в поддержании гомеостаза почвенных микробных сообществ [Fu et al., 2026, Kothari et al., 2026]. В связи с этим изучение штаммов *Lysobacter*, выделенных из ризосферы эндемичных видов Прибайкалья, может быть полезным при поиске путей для поддержания биоразнообразия экосистем этого региона. Изучение подобных штаммов невозможно без понимания механизмов экологической адаптации посредством модификации жирнокислотного профиля мембран. Известно, что ЖК-состав мембран родо- и видоспецифичен, однако климатические особенности места выделения штамма могут накладывать отпечаток на его жирнокислотный профиль.

При изучении микробиоты ризосферы копеечника зундукского (*Hedysarum zundukii* Peschkova, Малое море, Байкал) был выделен *Lysobacter antibioticus* Hz25 [Petrushin et al., 2026]. Целью работы было охарактеризовать жирнокислотный профиль штамма Hz25 в сравнении с типовыми штаммами: *L. antibioticus* B-2273, *L. capsici* B-2533, *L. enzymogenes* B-2235 (ВКМ, г. Пушино).

Штаммы выращивали в жидкой питательной среде на основе ГМФ или на среде SYM при температуре 25°C. Для анализа бактерии брали на экспоненциальной фазе роста.

Экстракцию липидов и анализ состава жирных кислот проводили согласно общепринятым методикам [Bligh et Dyer, 1953; Christie, 1993].

Таблица. Жирнокислотный состав суммарных липидов исследуемых штаммов, % к сумме кислот

ЖК	Наименование	<i>L. Hz25</i>	<i>L. antibioticus</i>	<i>L. capsici</i>	<i>L. enzymogenes</i>
C14:0-i	Изомиристиновая	1.98	0.37	0.00	0.00
C14:0	Миристиновая	2.32	1.00	2.59	1.38
C15:0-i	Изопентадекановая	10.62	33.21	23.06	34.73
C15:0-a	Антеизопентадекановая	36.08	38.87	2.50	2.23
C15:0	Пентадекановая	1.23	0.00	0.00	0.13
C16:0-i	Изопальмитиновая	13.41	1.62	0.34	1.52
C16:0	Пальмитиновая	13.90	6.13	29.70	15.09
C16:1(n-11)	11,12-гексадеценовая	0.91	0.00	1.94	0.00
C16:1(n-9)	9,10-гексадеценовая	0.00	0.00	0.00	1.44
C16:1(n-7)	7,8-гексадеценовая	0.00	0.27	8.22	21.44
C16:1(n-5)	5,6-гексадеценовая	0.00	0.00	0.00	0.94
C17:0-i	Изомаргариновая	0.00	3.78	6.95	10.53
C17:0-a	Антеизомаргариновая	18.15	8.20	0.00	0.00
C17:0	Маргариновая	0.10	1.17	1.05	1.22
C18:0	Стеариновая	0.89	3.60	12.22	3.73
C18:1(n-9)	Олеиновая	0.21	1.27	5.46	1.83
C18:1(n-7)	Цис-вакценовая	0.05	0.25	1.49	3.18
C18:2(n-6)	Линолевая	0.14	0.26	4.47	0.91

У изученных штаммов выявлено высокое содержание жирных кислот с разветвлённой углеродной цепью преимущественно C15 ряда, что характерно для прокариотических организмов. Пентадекановая кислота выявлена только у Hz25 и *L. enzymogenes* (1.23% и 0.13% соответственно). Изопентадекановая кислота присутствует в высоких концентрациях у всех исследуемых видов бактерий. Антеизопентадекановая кислота в больших количествах содержится у штаммов Hz25 и *L. antibioticus* (36.08 и 38.87%). Пальмитиновая кислота, как одна из основных кислот живых организмов, находится в типичных для бактерий пределах, достигая 29.7% у *L. capsici*. При этом концентрация изопальмитиновой кислоты у Hz25 и *L. antibioticus* достигает 13.41 и 1.62%, в то время как у *L. enzymogenes* и *L. capsici* её содержание существенно меньше. Среди изомеров пальмитиновой кислоты, обнаруженных в следовых количествах и не во всех пробах, наиболее высокое содержание 7,8-гексадеценовой кислоты отмечено у штамма *L. enzymogenes* (21.44%). Выявлено минимальное содержание маргариновой кислоты у всех штаммов бактерий, однако, у *L. capsici* и *L. enzymogenes* преобладает изомаргариновая кислота (6.95 и 10.35%), а у штаммов Hz25 и *L. antibioticus* – антеизомаргариновая (18.15 и 8.2%). Процессы элонгации с образованием стеариновой кислоты также различаются между группами штаммов: более низкие концентрации стеариновой кислоты наблюдаются у Hz25 и *L. antibioticus* (0.89 и 3.6%), более высокие у *L. capsici* и *L. enzymogenes* (12.22 и 3.73%). Концентрация цис-вакценовой кислоты у штаммов Hz25 и *L. antibioticus* не достигает 1%, тогда как у штаммов *L. capsici* и *L. enzymogenes* находится в диапазоне 1-3%. Низкое содержание олеиновой и цис-вакценовой кислот может указывать на пониженную активность соответствующих десатураз при 25°C.

Так как штаммы выращивали при 25°C, то выявленные особенности отражают не кратковременный адаптивный ответ, а конститутивные особенности, закреплённые генетически.

Можно сделать вывод о значительном сходстве жирнокислотных профилей штаммов Hz25 и В-2273, принадлежащих к виду *L. antibioticus*, что подтверждает их родство, однако следует отметить, что у штамма Hz25 выявлены специфические особенности: присутствует iso-16:0 (13.29%) и C14:0-i, соотношение anteiso-15:0 (35.7%) к anteiso-17:0 (18%) равно 1.99. Известно, что при низких температурах у психротолерантных бактерий доля anteiso-C15:0 возрастает, а anteiso-C17:0 снижается, что повышает текучесть мембран, и некоторые психротолерантные виды бацилл имеют подобный профиль [Kaneda, 1991]. Таким образом соотношение 1.99 у Hz25 может свидетельствовать о его конститутивной устойчивости к пониженным температурам.

Несмотря на признаки подавления активности ω 9-десатуразы, анализ генома Hz25 выявил гены синтеза десатураз: классической Δ 9-ацил-КоА-десатуразы и модифицирующей мембраносвязанные липиды десатуразы DesA-типа. Возможно, экспрессия этих генов активируется при пониженных температурах. Таким образом, работа вносит вклад в понимание механизмов адаптации у психротолерантных штаммов *Lysobacter*.

Литература

- Bligh E. G., Dyer W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Canadian Journal of Biochemistry and Physiology. 1959. Т. 37. С. 911–917
- Christie W.W. Preparation of lipid extracts from tissues / W.W. Christie // In: Advances in Lipid Methodology – Two. – Dundee: Oily Press, 1993. С. 195-213.
- Fu W., Li P., Sun C., Sun B., Kong Z., Zhu Y., Tian H., Guo Q., Lai H. *Lysobacter* orchestrates plant-microbiome crosstalk to enhance tomato fruit quality. // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2025. Т. 73. №. 50. С. 32348-32362.
- Kaneda T. Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance // Microbiological reviews. 1991. Т. 55. №. 2. С. 288-302.
- Kothari A. J. D., Martini A., Puopolo G. *Lysobacter*: an emerging frontier in sustainable control of soilborne phytopathogenic microorganisms // Soil Microorganisms for Plant Growth Promotion and Soil Health. – Elsevier, 2026. С. 327-365.
- Petrushin I.S., Nurminskaya Yu.V., Markova Yu.A. Genomic features of the micropredator *Lysobacter* sp. Hz25 isolated from the rhizosphere of *Hedysarum zundukii* // International Journal of Molecular Sciences. 2026. Т. 27. №. 9. С. 3800.

АНАЛИЗ ГЕННЫХ КЛАСТЕРОВ БИОСИНТЕЗА ПОЛИСАХАРИДОВ ВИБРИОНОВ КЛАДЫ MEDITERRANEI ИЗ КОЛЛЕКЦИИ КММ ТИБОХ ДВО РАН

Ю.В. Савичева¹, М.П. Исаева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии имени Г.Б. Елякова, проспект 100-летия Владивостока, 159/2, г. Владивосток, iu.savicheva0@yandex.ru, issaeva@gmail.com

Клада *Mediterranei* рода *Vibrio* представляет собой генетически обособленную группу, состоящую из двух субклад. На текущий момент в базе данных NCBI доступно 54 генома вибрионов клады *Mediterranei*. К первой субкладе относятся три вида *V. mediterranei*, *V. thalassae* и *V. barjaei*, а ко второй – *V. maritimus*, *V. variabilis*, *V. hangzhouensis* и *V. chaetopteri*. Все представители данной клады являются морскими штаммами, обнаруженными либо в толще воды, либо в ассоциации с морскими организмами. Специфические условия морских экосистем сформировали у представителей рода в уникальные механизмы адаптации, что делает их перспективными продуцентами биологически активных соединений, таких как полисахариды. Выраженная биологическая активность полисахаридов обуславливает необходимость биоинформатического поиска и анализа их генных кластеров в бактериальных геномах.

Объектами исследования были полноразмерные последовательности геномов штаммов рода *Vibrio* клады *Mediterranee* из коллекции КММ ТИБОХ ДВО РАН, а также из базы данных NCBI. Полногеномные последовательности 18 штаммов были получены методом сборки из коротких прочтений на платформе MiSeq (Illumina, США) и/или длинных прочтений на платформе MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Аннотирование геномов было выполнено с помощью серверов RAST и InterProScan. В ходе поиска генных кластеров биосинтеза полисахаридов, основываясь на ранее установленных для них границах [1], были обнаружены протяженные геномные участки от 43 до 154 т.п.н. В докладе будет представлена организация полисахаридных БГК бактерий рода *Vibrio* клады *Mediterraneae*, кодирующих капсульные и О-антиген полисахариды. Особое внимание будет дано кластерам, содержащим гены сульфотрансфераз и транспортных систем.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.БРК.25.14 (Соглашение № 075–15-2025-467)

Литература

1. Kokoulin, M. S. Structure and Biosynthetic Gene Cluster of Sulfated Capsular Polysaccharide from the Marine Bacterium *Vibrio* sp. КММ 8419 // International Journal of Molecular Sciences. 2024. Vol. 25, iss. 23. — Art. 12927. <https://doi.org/10.3390/ijms252312927>

АДАПТАЦИЯ ПСИХРОТОЛЕРАНТНОГО ГРИБА *MUCOR FLAVUS* К СТРЕССУ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ, ВЫЗВАННОМУ АЗОКРАСИТЕЛЯМИ

С.А. Сахарова¹, Е.А. Януцевич¹, О.А. Данилова¹, Г.А. Кочкина², В.М. Терёшина¹

¹ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва,
Sofia.A.Saharova@yandex.ru

² Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН, Пушкино, gaga56@mail.ru

В отличие от хитин-глюкановой клеточной стенки (КС) у аско- и базидиомицетов, основными компонентами КС мукоромицетов являются хитин и хитозан [Cheng et.al., 2024]. Стресс клеточной стенки (СКС) возникает при воздействии некоторых абиотических стрессоров и химических соединений, нарушающих синтез или сборку основных полисахаридов КС [Ram et.al., 2004]. В ответ на СКС активируется сигнальный путь сохранения целостности КС, который приводит к усилению синтеза хитина и глюкана. При этом наблюдаются морфологические изменения гиф и увеличивается количество хитина и глюкана в КС грибов. Особый интерес вызывает вопрос, как связаны осмолитная и мембранная системы клетки с ответом на СКС, так как они участвуют в ответе на действие абиотических стрессоров.

В качестве объекта исследования был выбран мукоромицет *Mucor flavus* Bainier 1903 VKM F-4102D, обладающий хитин-хитозановым типом КС. Помимо этого, он является психротолерантом, имеющим механизмы адаптации к холоду, что представляет дополнительный интерес в изучении его ответа на СКС.

Целью исследования было изучение влияния СКС, индуцированного азокрасителями конго красным (КК) и калькофлуором белым (КФБ), на рост, содержание основных полисахаридов КС, состав осмолитов, мембранных и запасных липидов у психротолерантного гриба *M. flavus*.

Для биохимических исследований гриб выращивали в глубинной культуре при оптимальной температуре (20°C) до окончания стадии прорастания (12 часов) и далее продолжали выращивать в тех же условиях в течение 4 часов с добавлением КК (100 мкг/мл) и КФБ (75 мкг/мл). Для сравнения использовали контрольный вариант без красителей.

Экстракцию липидов проводили методом Николса, количественный состав липидов определяли с помощью тонкослойной хроматографии и денситометрии. Анализ состава жирных кислот фосфолипидов проводили методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ) их метиловых эфиров. Состав осмолитов определяли методом ГЖХ триметилсилильных производных сахаров с использованием внутреннего стандарта.

КС мицелия выделяли согласно методу [Ram et.al., 2004] с модификациями. Количество хитина в КС гриба определяли по глюкозамину, используя метод Боаса с парадиметиламинобензальдегидом [Boas, 1953]. Количество полисахаридов в КС определяли, анализируя количество сахаров фенол-серным методом [Hodge et.al., 1962].

Под действием азокрасителей, внесённых в глубинную культуру на стадии образования длинных ростовых трубок (12 часов культивирования), в грибных гифах наблюдалась остановка апикального роста и ветвления гиф, при этом расширений по длине ростовых трубок и лизиса их апикальных концов не обнаружено. В контрольном образце, наоборот, происходило активное ветвление ростовых трубок. Также по сравнению с контролем в опытных образцах вдвое снижалось количество биомассы.

Исследование состава осмолитов показало, что углеводы и полиолы не участвуют в адаптации в ответ на СКС. Так, в контрольном образце их количество составляло около 1,1% от сухой массы и снижалось в несколько раз при действии азокрасителей. Основным осмолитом является глюкоза (95% от суммы), в следовом количестве присутствуют глицерин, эритрит, арабит, маннит, инозит и трегалоза. При действии КК существенных изменений в относительном содержании осмолитов не обнаружено, а при действии КФБ они были незначительными: увеличивалась доля глицерина до 12% и трегалозы до 4% на фоне снижения доли глюкозы до 78% в опытных образцах по сравнению с контролем. При этом заметного увеличения количества трегалозы или полиолов, являющихся протекторными соединениями гриба, не зафиксировано.

Количество мембранных липидов как в контроле, так и в опытных вариантах было достаточно высоким и составляло 11-12% от сухой массы. В контрольном варианте доминировали небислойные фосфатидные кислоты (ФК) – 44% от суммы, фосфатидилэтаноламины (ФЭ) – 34%, остальные фосфолипиды присутствовали или в минорном (фосфатидилхолины и стерины), или в следовом количестве. Под действием обоих азокрасителей происходило увеличение доли ФК до 54% на фоне снижения доли ФЭ до 27%.

Жирные кислоты фосфолипидов в контрольном образце представлены в основном пальмитиновой (C16:0), олеиновой (C18:1), линолевой (C18:2), и линоленовой (C18:3) кислотами, доли которых находились в диапазоне 18-25% от суммы. Под действием азокрасителей отмечалось незначительное повышение долей полиненасыщенных линолевой и линоленовой кислот на фоне снижения доли пальмитиновой кислоты, что приводило к небольшому увеличению степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов на 7% по сравнению с контрольным вариантом.

Количество запасных липидов не превышало 2,5% от сухой массы и оставалось таким же при воздействии обоих азокрасителей. Основными запасными липидами являлись триацилглицериды (ТАГ, 37% от суммы), диацилглицериды (ДАГ, 32%), моноацилглицериды и свободные жирные кислоты (МАГ и СЖК соответственно, по 15%).

При действии азокрасителей снижалось относительное содержание ТАГ и увеличивалась доля ДАГ, доля МАГ и СЖК оставалась постоянной.

Действие азокрасителей не вызывало повышение количества хитина, составлявшего приблизительно 16% от КС в контроле и образцах с добавлением КФБ, или, как в варианте с КК, снижало количество хитина до 14% по сравнению с контролем. Не было обнаружено достоверных изменений в содержании нейтральных полисахаридов.

Таким образом, у *M. flavus* действие азокрасителей КК и КФБ приводит к остановке апикального роста и ветвления. При этом их действие вызывало существенное изменение состава мембранных и запасных липидов: рост доли ФК на фоне снижения доли ФЭ в составе мембранных липидов и повышение доли ДАГ и снижение доли ТАГ в составе запасных липидов, а также изменение в составе жирных кислот фосфолипидов. Однако действие азокрасителей не приводило к росту уровня хитина и нейтральных полисахаридов в КС и к накоплению осмолитов в клетках, что отличает ответ на СКС у мукорового гриба от аскомицетов.

Работа была поддержана Российским научным фондом, проект № 25-24-00069.

Литература

Boas N.F. Method for the determination of hexosamines in tissues // Journal of Biological Chemistry. 1953. Vol. 204. P. 553-563.

Cheng Q., Dickwella Widanage M.C., Yarava J.R., Ankur A., Latgé J.-P., Wang P., Wang T. Molecular architecture of chitin and chitosan-dominated cell walls in zygomycetous fungal pathogens by solid-state NMR // Nature Communications. 2024. Vol. 15. Art. 8295.

Hodge J.E., Hofreiter B.T. Determination of reducing sugars and carbohydrates / J.E. Hodge, B.T. Hofreiter // Methods in carbohydrate chemistry. Vol. 1. Analysis and preparation of sugars / Eds. R.L. Whistler, M.L. Wolfrom. New York: Academic Press, 1962. P. 380-394.

Ram A.F.J. The cell wall stress response in *Aspergillus niger* involves increased expression of the glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase-encoding gene (gfaA) and increased deposition of chitin in the cell wall // Microbiology. 2004. Vol. 150. P. 3315-3326.

СТРЕСС КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ У МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ

В.М. Терёшина¹, Е.А. Януцевич¹, С.А.Сахарова¹, Г.А. Кочкина², О.А. Данилова¹

¹ Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, v.m.tereshina@inbox.ru

² Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований» РАН, Пушкино, gaga56@mail.ru

В отличие от дрожжей, клеточные стенки (КС) мицелиальных грибов состоят из разнообразных глюканов (β -1,3-, β -1,3-/ β -1,4-, β -1,6-, и α -1,3-глюканы), хитина и хитозана, маннана и/или галактоманнана, и гликопротеинов [Gow, Lenardon, 2023]. У аско- и базидиомицетов основными полисахаридами КС являются хитин и глюканы, а в КС мукоморомицетов нет глюканов, но присутствуют хитин и хитозан. Хитин – линейный гомополимер N-ацетил-D-глюкозамина с β -1,4-связями, а хитозан – линейный гомополимер D-глюкозамина с β -1,4-связями. В области КС между антипараллельными хитиновыми цепями образуются многочисленные водородные связи, в результате чего формируются микрофибриллы или палочки (rodlets). Ригидность хитина обусловлена линейностью и антипараллельностью цепей, что делает его одним из самых прочных биополимеров в

природе. Хитин локализован во внутреннем слое КС в виде микрофибрилл, и связан ковалентно с гибкими цепями β -1,3-глюкана.

В жизненном цикле грибов стресс клеточной стенки (СКС) возникает *in vivo* при действии половых феромонов, которые способствуют перестройкам в составе КС, а также при действии некоторых стрессоров, например, окислительного воздействия, высокого или низкого значений pH, ДНК-повреждающих агентов, теплового и гипоосмотического шоков [Levin, 2011]. Кроме того, СКС возникает под действием химических соединений, нарушающих синтез или сборку основных полисахаридов КС – глюканов и хитина. Для создания СКС *in vitro* используют фунгицидные антибиотики, азокрасители конго красный (КК) и калькофлуор белый (КФБ), литические ферменты (зимолиаза), антибиотики, ингибирующие 1,3- β -D-глюкан синтазу (каспофунгин, микафунгин, анидулафунгин) или хитин синтазу (никкомицин), которые приводят к ослаблению КС и лизису клеток грибов [Ram, 2004]. Полагают, что КК связывается неспецифически с α -1,3- и β -1,3-глюканами и хитином, тогда как КФБ преимущественно связывается с хитином. Добавление КК или КФБ к активно растущим клеткам приводит к морфологическим изменениям: у дрожжей наблюдается неполное разделение материнских и дочерних клеток, у мицелиальных грибов происходит набухание и лизис апикальных концов гиф. Однако механизм действия азокрасителей слабо изучен. Так, на примере КК убедительно показано, что его действие распространяется не только на синтез полисахаридов КС, но затрагивает первичный и вторичный метаболизм *Aspergillus fumigatus*, что свидетельствует о его плеiotропном эффекте [Liu et.al., 2021].

В ответ на СКС запускается сигнальный путь сохранения целостности КС (cell wall integrity (CWI) pathway), действие которого приводит к усиленному синтезу основных полисахаридов КС – хитина и глюкана. Эти данные согласуются со стимуляцией транскрипции гена *gfaA*, кодирующего фермент глутамин:фруктозо-6-фосфат-амидотрансферазу, участвующий в первом и лимитирующем скорость этапе синтеза хитина после стресса клеточной стенки, вызванного КФБ у *Aspergillus niger* [Ram, 2004]. Сенсорный белок MtlA у *Aspergillus nidulans* сильно O-гликозилирован и локализован на поверхности клетки. Потеря MtlA повышает чувствительность к ингибиторам синтеза клеточной стенки и снижает содержание α -глюкана и хитина в клеточной стенке. CWI путь – это многоступенчатая система фосфорилирования, включающая индукцию ГТФ-аз RhoB и RhoD через митоген-активируемую протеинкиназу-киназу MAP2K и фактор транскрипции RlmA [Fiedler et.al, 2014]. CWI путь участвует в процессах морфогенеза, вирулентности и чувствительности к фунгицидам. Однако, как и для дрожжей, для аспергиллов выявлено, что помимо этого сигнального пути в ответе на СКС участвуют еще два пути ответа на общий стресс: первый, опосредованный транскрипционными факторами Msn2p/Msn4p у дрожжей и их ортологом MsnA у аспергиллов, и второй – кальций/кальциневриновый путь, опосредованный, соответственно, факторами Crz1p и CrzA [Bruder Nascimento et al., 2016]. Получены также данные о взаимодействии сигнальных путей ответа на СКС, осмотический, окислительный, тепловой шоки [Ribeiro et al., 2022]. В связи с этими соображениями возникает вопрос об участии осмолитов и мембранных липидов в ответе на СКС, индуцированном различными стрессорами.

Наши исследования показали, что в ответ на СКС, индуцированный азокрасителями, у *A. niger* наблюдается остановка апикального роста и набухание апексов, возрастает количество хитина и глюкана в КС, но состав мембранных липидов и осмолитов не изменяется. Однако при этом увеличивается степень ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов. Напротив, у мукорового гриба *Mucor flavus* азокрасители, ингибируя апикальный рост, не вызывают морфологических изменений гиф и увеличения количества

хитина в КС, а также изменений состава растворимых углеводов цитозоля, но существенно меняют состав мембранных и запасных липидов. В ответ на тепловой шок у *A. niger* повышается содержание хитина в КС, существенно изменяется состав мембранных липидов и их жирных кислот, а также осмолитов клеток. Напротив, осмотический шок приводит только к изменению состава осмолитов. Действие каспофунгина, ингибирующего синтез глюкана, приводит к возрастанию количества хитина у *A. niger*, но не вызывает изменений в мембранной и осмолитной системах клетки. Полученные данные свидетельствуют о взаимосвязи защитных систем клетки и показывают, что ответ на СКС у грибов зависит от природы и механизма действия стрессора.

Работа была поддержана Российским научным фондом, проект № 25-24-00069.

Литература

Bruder Nascimento A.C.M. de O., dos Reis T.F., de Castro P.A., Hori J.I., Bom V.L.P., de Assis L.J., Ramalho L.N.Z., Rocha M.C., Malavazi I., Brown N.A., Valiante V., Brakhage A.A., Hagiwara D., Goldman G.H. Mitogen activated protein kinases SakA HOG1 and MpkC collaborate for *Aspergillus fumigatus* virulence // *Molecular Microbiology*. 2016. Vol. 100. P. 841–859.

Fiedler M.R., Lorenz A., Nitsche B.M., van den Hondel C.A., Ram A.F., Meyer V. The capacity of *Aspergillus niger* to sense and respond to cell wall stress requires at least three transcription factors: RlmA, MsnA and CrzA // *Fungal Biology and Biotechnology*. 2014. Vol. 1. P. 5.

Gow N.A.R., Lenardon M.D. Architecture of the dynamic fungal cell wall // *Nature Reviews Microbiology*. 2023. Vol. 21. P. 248–259.

Levin D.E. Regulation of cell wall biogenesis in *Saccharomyces cerevisiae*: the cell wall integrity signaling pathway // *Genetics*. 2011. Vol. 189. P. 1145–1175.

Liu Z., Raj S., van Rhijn N., Fraczek M., Michel J.-P., Sismeiro O., Legendre R., Varet H., Fontaine T., Bromley M., Latgé J.-P. Functional genomic and biochemical analysis reveals pleiotropic effect of congo red on *Aspergillus fumigatus* // *mBio*. 2021. Vol. 12. Art. e00863-21.

Ram A.F.J. The cell wall stress response in *Aspergillus niger* involves increased expression of the glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase-encoding gene (GfaA) and increased deposition of chitin in the cell wall // *Microbiology*. 2004. Vol. 150. P. 3315–3326.

Ribeiro R.A., Bourbon-Melo N., Sá-Correia I. The cell wall and the response and tolerance to stresses of biotechnological relevance in yeasts // *Frontiers in Microbiology*. 2022. Vol. 13. Art. 953479.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ И УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ *GORDONIA ALKANIVORANS* К ФАРМПОЛЛЮТАНТУ МЕЛОКСИКАМУ

С.М. Тянь^{1,2}, И.Б. Ившина^{1,2}

¹ Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Пермь, e-mail: ivshina@iegm.ru

² ФГАОУ ВО “Пермский государственный национальный исследовательский университет”, Пермь, e-mail: vviolet00@mail.ru

Загрязнение окружающей среды фармацевтически активными компонентами рассматривается как один из ключевых факторов формирования лекарственной устойчивости, признанной одной из наиболее значимых современных угроз общественного здравоохранения [Boxall, 2024; Fdez-Sanromán, 2025]. Среди фармакологических препаратов, регулярно обнаруживаемых в природных водных и наземных экосистемах, особое место занимают нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), в частности, мелоксикам [Cyrillo Guimarães da Silva, 2020; Sheikhlangi, 2023]. Повышенное беспокойство вызывает сочетание высокого уровня потребления мелоксикама, его неполного метаболизма и ограниченных данных о его воздействии на биоту.

В предыдущих исследованиях нами было показано, что представители *Rhodococcus sensu stricto* и близкородственных бактерий из Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (официальный акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, УНУ/ЦКП 73559/480868, <http://www.iegmcoll.ru>) способны к биодegradации таких НПВС, как диклофенак [Ivshina, 2019] и ибупрофен [Ivshina, 2021]. Тем не менее остаются значительные пробелы в понимании механизмов микробной устойчивости к мелоксикаму и потенциальных экотоксических последствий в экосистеме.

В связи с этим необходим тщательный анализ влияния мелоксикама на жизнеспособность и метаболические процессы почвенных и водных микроорганизмов, поскольку именно они первыми реагируют на поступление экотоксикантов в окружающую среду.

В данной работе приведены результаты исследования ответных реакций бактерий *Gordonia alkanivorans* ИЭГМ 1277 на воздействие мелоксикама. На начальных этапах экспозиции (0–3 сут) зафиксировано наращивание скорости кислородного метаболизма клеток *G. alkanivorans* ИЭГМ 1277. Мелоксикам, по-видимому, обуславливал формирование активных форм кислорода, что приводило к возникновению окислительного стресса. В ответ на это бактериальные клетки активировали антиоксидантные системы. Реализация этого защитного механизма требует дополнительного энергетического обеспечения, что сопровождается увеличением скорости потребления кислорода и, как следствие, повышением респираторной активности клеток.

Зафиксированное снижение показателя рН, вероятно, свидетельствует о процессах, связанных с окислением мелоксикама и накоплением продуктов метаболизма. В этот же период наблюдалось стабильное уменьшение концентрации мелоксикама в среде культивирования гอร์ดоний.

Анализ морфологии бактериальных клеток методом атомно-силовой микроскопии выявил снижение соотношения площади поверхности к объему (S/V) клеток ИЭГМ 1277. Это свидетельствует об адаптивном механизме, направленном на минимизацию взаимодействия клеток с токсичным агентом. Обратная картина наблюдалась на 14 сут, что связано с истощением мелоксикама из среды и выделением менее токсичных продуктов обмена.

Таким образом, наличие мелоксикама в среде культивирования индуцирует фенотипические и метаболические модификации клеток *G. alkanivorans* ИЭГМ 1277. Полученные сведения можно рассматривать как адаптационные механизмы бактерий и, как следствие, повышение их устойчивости к токсическому действию фармполлутанта.

Исследования выполнены с использованием оборудования ЦКП «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов» Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук в рамках ГЗ Минобрнауки РФ (тема № 124020500028-4).

Литература

Boxall A.B.A., Brooks B.W. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: What progress has been made in addressing the big research questions? // *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2024. Vol. 43. P. 481–487.

Cyrillo Guimarães da Silva J., Bigolin C., Cé da Silva L., Sebulsqui Saraiva T.E., Machado Menezes J., Veiverberg A., Feiffer Charão M., Heemann Betti A. Neurotoxicity evaluation of meloxicam in the alternative *in vivo* model, *Caenorhabditis elegans* // *International Journal of Innovative Education and Research*. 2020. Vol. 8. P. 319–325.

Fdez-Sanromán A., Bernárdez-Rodas N., Rosales E., Pazos M., González-Romero E., Sanromán M.Á. Biosensor technologies for water quality: detection of emerging contaminants and pathogens // *Biosensors*. 2025. Vol. 15. Article 189.

Ivshina I.B., Tyumina E.A., Bazhutin G.A., Vikhareva E.V. Response of *Rhodococcus cerastii* IEGM 1278 to toxic effects of ibuprofen // PLoS One. 2021. Vol. 16. Article e0260032.

Ivshina I.B., Tyumina E.A., Kuzmina M.V., Vikhareva E.V. Features of diclofenac biodegradation by *Rhodococcus ruber* IEGM 346 // Scientific Reports. 2019. Vol. 9. Article 9159.

Sheikhlangi Z., Gharai A., Mirdar Harijani J., Davari S.A., Hassanein P., Rahdari A. Toxicological effects of meloxicam on physiological and antioxidant status of common carp (*Cyprinus carpio*) // Veterinary Medicine and Science. 2023. Vol. 9. P. 2085–2094.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ КАК ОСНОВА УСТОЙЧИВОСТИ НАЗЕМНЫХ ЭКОСИСТЕМ

**А.П. Юрков¹, А.А. Крюков¹, Т.Р. Кудряшова¹, Ю.В. Косульников¹, А.И.
Косульникова¹, А.И. Беляева¹**

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), г. Санкт-Петербург, ap.yurkov@arriam.ru

Грибы арбускулярной микоризы (АМ) образуют монофилетическую группу Glomeromycota, которая включает один класс – Glomeromycetes, насчитывающий около 355 видов [1]. Они формируют неспецифический симбиоз с более чем 80% видами наземных растений, усиливая их рост, развитие, минеральное питание (особенно фосфорное). В связи с этим актуальна разработка биопрепаратов на их основе для повышения продуктивности агрокультур, получения экологически чистой продукции и ремедиации нарушенных экосистем. Однако эффект штаммов грибов АМ при интродукции в агроэкосистемы до сих пор не изучен. Цель работы – оценить влияние инвазивного штамма RCAM00320 *Rhizophagus irregularis* на естественное разнообразие АМ-грибов в ризосфере в модельной тест-системе на отзывчивой на микоризацию многими видами грибов АМ линии M1S-1 *Medicago lupulina* L. С этой целью коллективом был разработан и усовершенствован алгоритм видовой идентификации АМ-грибов, позволивший впервые в России обнаружить центр их биоразнообразия в долине р. Теберда [2]. Для оценки влияния инвазивного штамма на естественное разнообразие проведен вегетационный опыт на нестерильной почве из данного центра (координаты: 43°25'12.0" N 41°43'45.0" E, высота 1342 м). Следует отметить, что модельная линия M1S-1 люцерны хмелевидной уже активно используется для изучения механизмов развития эффективной АМ в условиях низкого и достаточного уровня фосфора в почве [3]. Идентификацию грибов проводили по региону ITS2 методом Illumina MiSeq [2]. Показано существенное снижение числа операционных таксономических единиц (ОТЕ) в фазу первого листа как при инокуляции, так и без нее (Рисунок).

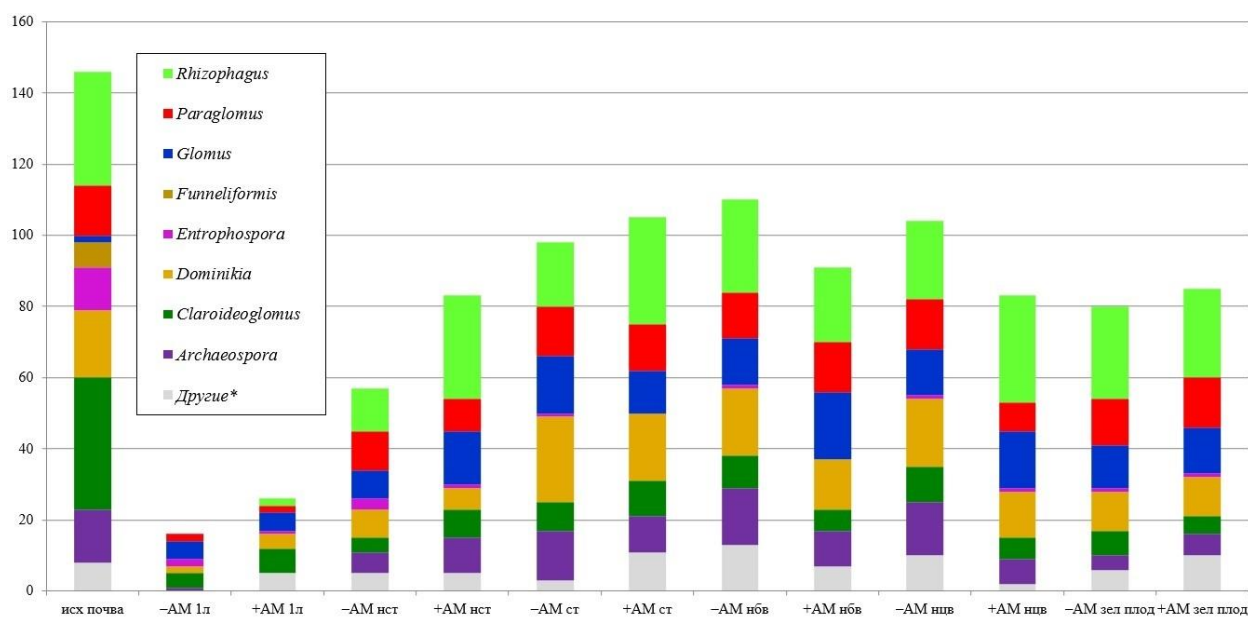


Рисунок - Число ОТЕ грибов АМ по региону ITS2 по родам

На Рисунке 1 “исх почва” – исходная почва с максимальным разнообразием грибов АМ, отобранная в горячей точке биоразнообразия на Северном Кавказе в долине реки Теберда на территории Тебердинского национального парка [2]; “–АМ” и “+АМ” – варианты без инокуляции и с инокуляцией тестовым эффективным штаммом RCAM00320 *Rhizophagus irregularis*, соответственно; “1л” – фаза развития первого листа у *Medicago lupulina*; “нст” – фаза начала стеблевания; “нбв” – фаза начала бокового ветвления; “зел плод” – фаза начала плодоношения (зеленый плод); “Другие*” – суммарное число ОТЕ других родов грибов АМ со средней долей ОТЕ менее 5% в исходной почве. Доля ОТЕ рода *Rhizophagus* была выше уже в фазу “1л” в варианте с микоризацией. Затем уже в фазу “нст” наблюдался существенный прирост ОТЕ всех доминирующих родов грибов АМ, причем восстановление биоразнообразия грибов происходило быстрее в варианте с инокуляцией штаммом-интродуцентом. Доля ОТЕ рода *Rhizophagus* “восстановилась” к этому сроку и уже не снижалась вплоть до фазы начала плодоношения. Таким образом, в результате исследования было показано, что микоризация инвазивным штаммом не приводит к подавлению “аборигенной” микробиоты ризосферы, а, наоборот, ускоряет восстановление биоразнообразия. При этом ОТЕ родов *Rhizophagus*, *Paraglomus*, *Dominikia*, *Archaeospora* восстанавливались по уровню разнообразия таксонов по региону ITS2 до значений в исходной почве, ОТЕ рода *Glomus* кратно увеличивались в модельной тест системе на линии M1S-1 *M. lupulina*, а ОТЕ родов *Funneliformis*, *Entrophospora* и *Claroideoglomus*, наоборот, снижались. Такие результаты могут указывать на необходимость проверки гипотезы о возможной специфичности грибов АМ разных видов к видам растений, а также на необходимость проверки гипотезы о наличии факторов, влияющих на конкуренцию грибов АМ разных видов за углеводы, доступ к которым обеспечивается только за счет облигатного симбиотического взаимодействия с растением-хозяином и может быть сильно ограничен для некоторых видов в силу меньшей специфичности взаимодействия в модельной системе при наличии лишь одного фитобионта.

В заключение отметим, что эффективный штамм RCAM00320 может применяться в полевых условиях без риска для аборигенных АМ-грибов, поскольку он не подавляет их развитие, а, наоборот, способствует поддержанию биоразнообразия. Ведется работа по созданию первой в России коллекции АМ-грибов, включая получение спорокарпов грибов АМ разных родов. Данная коллекция может стать основой природоподобных технологий в части разработки биопрепаратов, повышающих продуктивность сельхозкультур и поддерживающих естественное биоразнообразие полезной почвенной микробиоты.

Литература

1. Schüßler A. AMF Species List. URL: <https://sites.google.com/view/cicg-furb-english/taxonomy/amf-species-list>. Last updated: 04.04.2025.
2. Yurkov A., Kryukov A., Gorbunova A., Kudriashova T., Kovalchuk A., Gorenkova A., Bogdanova E., Laktionov Yu., Zhurbenko P., Mikhaylova Yu., Puzanskiy R., Bagrova T., Yakhin O., Rodionov A., Shishova M. The biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in some ecosystems of the North Caucasus temperate hotspot. // J. Fungi. 2024. V.10(1). P. 11.
3. Yurkov A.P., Puzanskiy R.K., Kryukov A.A., Kudriashova T.R., Kovalchuk A.I., Gorenkova A.I., Bogdanova E.M., Laktionov Y.V., Romanyuk D.A., Yemelyanov V.V., Shavarda A.L. Shishova M.F. The effect of arbuscular mycorrhizal fungus and phosphorus treatment on root metabolome of *Medicago lupulina* during key stages of development // Plants. 2025. V. 14. P. 2685.

Секция 2

Адаптация микроорганизмов к условиям обитания в организме хозяина (животное, растение, человек)

ЖИЗНЬ С РАСТЕНИЕМ: АДАПТАЦИОННЫЙ TOOLBOX РИЗОБИЙ

Е.Е. Андронов, Н.А. Проворов

ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Пушкин, eeandr@gmail.com

Как принято считать, бобово-ризобиальный симбиоз исторически возникает с небольшим запозданием после появления бобовых растений примерно около 60 млн лет назад. Вся история эволюции бобово-ризобиального симбиоза представляет собой адаптацию функционального богатства глобального микробиома к обеспечению азотного питания растений путем фиксации атмосферного азота в специализированном симбиотическом органе корневом клубеньке. История эта интересна тем, что в ней не создавались никакие принципиально новые элементарные функциональные блоки. Это история комбинирования и адаптации функций уже существующих. На ранних этапах этого эволюционно-адаптационного процесса речь шла о формировании самой принципиальной возможности симбиотической азотфиксации путем сопряженного с большими сложностями «рекрутирования» древней нитрогеназы, возникшей в бескислородную эпоху около 3 млрд лет назад, к работе в среде, в которой присутствует кислород. Вторая проблема, которая решалась на ранних этапах эволюции, была связана с эволюционным «конструированием» сигнальной системы, позволяющей растению-хозяину и микросимбионту узнавать друг друга и запускать сложную систему формирования азотфиксирующего клубенька. Детали этой системы также были позаимствованы от гораздо более древнего симбиоза арбускулярной микоризы. В настоящее время эволюционные и адаптационные процессы также имеют место, но они направлены на отладку таких параметров симбиоза, как тонкая подстройка хозяйской специфичности, конкурентоспособности и эффективности симбиоза.

В настоящем сообщении мы продемонстрируем некоторые инструменты из современного «адаптационного» инструментария ризобий, которые задействованы в непрерывном преобразовании ризобиального генома с использованием традиционных механизмов генетической изменчивости: мутаций, геномных перестроек и горизонтального переноса генов, для обеспечения эффективной и специфичной азотфиксации, а также для

долгосрочного хранения найденных решений. Особое внимание будет посвящено адаптационным стратегиям, реализуемым в системах азотфиксирующего симбиоза для обеспечения эффективности взаимодействия партнеров. Сформулированный Геральдом Флором (Flor, 1942) принцип эволюционного взаимодействия хозяина и паразита «ген-на-ген» вполне справедлив и для эволюции симбиотических систем, однако, однако, с некоторыми существенными поправками, смысл которых заключается в том, что партнеры не противостоят друг другу в «гонке вооружений» а взаимно адаптируются с целью достижения максимальной эффективности симбиоза, что приводит к существенной смене адаптационной стратегии от модели Red Queen к модели Red King (Bergstrom and Lachmann, 2003). В настоящем сообщении мы продемонстрируем молекулярные механизмы, задействованные в поиске оптимальных аллельных вариантов симбиотических генов ризобий, контролирующих взаимодействие с растительными симбиотическими рецепторами (Igolkina et al., 2018; Igolkina et al., 2019).

Другой важный вопрос, которому до сих пор в исследованиях эволюции ризобий уделялось довольно мало внимания – это генетическая структура почвенной популяции ризобий и ее связи с эволюционными процессами, о которых было сказано выше. Как показали последние наши исследования, у каждого вида ризобий в почве существует «теневая популяция» симбиотически неактивных ризобий, аккумулирующих исключительно высокого генетическое разнообразие как генов «домашнего хозяйства», так и симбиотических генов. Одна из гипотез, над которой мы в настоящий момент работаем, заключается в том, что такие скрытые почвенные популяции являются эволюционным и адаптационным «резервуаром», в котором могут осуществляться смелые эксперименты над выведенными из-под действия отбора симбиотическими генами ризобий, успешные версии которых могут быть при необходимости «рекрутированы» симбиотически активными ризобиями. Кроме того, результаты некоторых экспериментов свидетельствуют о том, что в почве существует и функциональный «адаптом» обеспечивающий постоянную «подстройку» и модификацию ризобияльных геномов для их эффективного взаимодействия не только с растением, но и окружающей средой (Андронов и др., 2025).

Работа поддержана грантом РНФ № 25-16-00068.

Литература

- Flor, H. H. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini* // *Phytopathology*. 1942. Vol. 32, P. 653–669.
- Bergstrom, C. T., & Lachmann, M. (2003). The Red King effect: When the slowest runner wins the coevolutionary race // *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*. 2003. Vol. 100. P. 593–598.
- Igolkina A.A., et al. Structural insight into the role of mutual poly-morphism and conservatism in the contact zone of the NFR5–K1 heterodimer with the nod factor // *Frontiers in Plant Science*, 2018. Vol. 9. P. 344-358.
- Igolkina A.A., et al. Matching population diversity of rhizobial nodA and legume NFR5 genes in plant-microbe symbiosis // *Ecol. Evol.*, 2019. Vol. 9. P.10377-10386.
- Е. Е. Андронов, Т. С. Аксенова, О. П. Онищук, О. Н. Курчак, В. И. Сафронова, А. Г. Пинаев, И. В. Евсюков, Н. А. Проворов. Штамм-специфические маркеры ризобий по данным полногеномного секвенирования. *Микробиология* // 2025. Т. 94. №1. С. 30-39.

LACTOBACILLUS PLANTARUM - ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ПРОБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА В КИШЕЧНИКЕ ЧЕЛОВЕКА

М.В. Быконя¹, Ю.В. Батаева²

- ¹ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», г. Москва, bykoniamariya@yandex.ru
- ² ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», г. Москва, aveatab@mail.ru

Lactobacillus plantarum - это вид молочнокислых бактерий, широко распространённых в природе и способных обитать как в ферментированных пищевых продуктах, так и в желудочно-кишечном тракте человека. Её биологическая гибкость обусловлена геномом, который обеспечивает способность адаптироваться к различным условиям среды [1].

Одной из характеристик *Lb. plantarum* является высокая устойчивость к стрессовым факторам желудочно-кишечного тракта. Бактерия способна переносить воздействие кислой среды желудка (низкий pH) и желчных солей в кишечнике, что сохраняет её жизнеспособность при пероральном приёме. Экспериментальные данные показывают, что значительная доля клеток достигает кишечника и может временно в нём сохраняться [2].

Важным свойством является способность к адгезии - прикреплению к клеткам кишечного эпителия [3]. Этот механизм, связан с взаимодействием с маннозоспецифическими рецепторами, что позволяет *Lb. plantarum* конкурировать с патогенными микроорганизмами за участки прикрепления. В результате снижается вероятность колонизации кишечника патогенами, такими как *Escherichia coli* [4].

Lb. plantarum имеет длительную историю использования в пищевой промышленности и пробиотических продуктах. Большинство исследований подтверждают безопасность этих бактерий для человека, включая эксперименты на животных и клинические испытания. Сообщения о возможной патогенности крайне редки и не подтверждаются в условиях *in vivo* [5].

Функциональные эффекты *Lb. plantarum* включают влияние на кишечную микробиоту и метаболизм, увеличение продукции короткоцепочечных жирных кислот (например, уксусной и пропионовой), что связано с улучшением процессов ферментации в кишечнике. Также наблюдаются такие эффекты, как уменьшение метеоризма, нормализация стула и изменение состава микробного сообщества [6].

Некоторые исследования указывают на системные эффекты, включая снижение уровня холестерина и фибриногена, это может снижать риск сердечно-сосудистых заболеваний. Штаммы *Lb. plantarum* демонстрируют иммуномодулирующие свойства: способны влиять на воспалительные процессы и усиливать иммунный ответ [7].

На молекулярном уровне установлено, что бактерии *Lb. plantarum* обладают большим числом генов, отвечающих за метаболизм сахаров, синтез аминокислот и адаптацию к стрессовым условиям. Это обеспечивает её выживание, метаболическую активность и способность к росту в кишечнике человека.

Lb. plantarum является перспективным пробиотическим микроорганизмом с широким спектром потенциальных эффектов. Однако результаты исследований остаются неоднородными, что указывает на необходимость дальнейших клинических испытаний с унифицированными методами для окончательной оценки её эффективности.

Литература

1. Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C.M.A.P., Harris H.M.B., Mattarelli P., O'Toole P.W., Pot B., Vandamme P., Walter J. и др. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2020. – Vol. 70. – P. 2782–2858.
2. Haller D., Colbus H., Ganzle M.C., Scherenbacher P., Bode C., Hammes W.P. Metabolic and functional properties of lactic acid bacteria in the gastrointestinal ecosystem: a comparative in vitro study between bacteria of intestinal and fermented food origin // *Syst. Appl. Microbiol.* – 2001. – Vol. 24. – P. 218–226.
3. Похиленко В.Д., Дунайцев И.А., Батаева Ю.В., Текутов А.Р. Колонизационная резистентность пробиотических бактерий // PLAMIC2024 : материалы IV Междунар. науч. конф.

«Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» и III Всерос. конф. с междунар. участием «Механизмы адаптации микроорганизмов к различным условиям среды обитания» (Байкальск, 15–22 сент. 2024 г.). Иркутск : Изд-во ИГУ, 2024. С. 405–406.

4. Pretzer G., Snel H., Molenaar D., Wiersma A., van der Meer R., Kleerebezem M. Identification of a mannose-specific adhesin encoding gene in *Lactobacillus plantarum* // Darmendag Utrecht. – 2004.

5. Tuomola E., Crittenden R., Playne M., Isolauri E., Salminen S. Quality assurance criteria for probiotic bacteria // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2001. – Vol. 73. – P. 393S–398S.

6. Johansson M.L., Nobaek S., Berggren A., Nyman M., Björck I., Ahrne S., Jeppsson B., Molin G. Survival of *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 (299v) and effect on the short-chain fatty acid content of faeces after ingestion of a rose-hip drink with fermented oats // *Int. J. Food Microbiol.* – 1998. – Vol. 42. – P. 29–38.

7. Bukowska H., Pieczul-Mroz J., Jastrzebska M., Chelstowski K., Naruszewicz M. Decrease in fibrinogen and LDL-cholesterol levels upon supplementation of diet with *Lactobacillus plantarum* in subjects with moderately elevated cholesterol // *Atherosclerosis*. – 1998. – Vol. 137. – P. 437–438.

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ВЕЗИКУЛ МАКРОФАГОВ В ИММУННОЙ ЗАЩИТЕ ПРИ ИНФЕКЦИИ *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS*

**О.С. Быченко^{1*}, Ю.С. Фомичева¹, Ю.В. Скворцова¹, А.С. Григоров¹, Б.А. Мартини²,
Е.Г. Салина^{1,2}, Т.Л. Ажикина¹**

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

² ФГБУН Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук, Москва, Россия

*Автор для корреспонденции: О.С. Быченко, email: oksana.belonovich@gmail.com

Лечение тяжёлых бактериальных инфекций всегда было сложной задачей для медицины, и микобактериальные инфекции не утратили своей остроты в наши дни, требуя постоянного контроля. В глобальном масштабе, в том числе и в России, неуклонно растёт число пациентов, инфицированных нетуберкулёзными микобактериями, среди которых особого внимания заслуживает *Mycobacterium abscessus* — второй по частоте возбудитель пневмонии в этой группе [Harada et al., 2025; Murthy et al., 2025]. Заболевания, ассоциированные с *M. abscessus*, характеризуются значительной клинической гетерогенностью и варьируют от хронических легочных инфекций до поражений кожи, мягких тканей и диссеминированных форм [Герасимова и др., 2021]. Ключевая проблема терапии инфекций, вызванных *M. abscessus*, связана с её природной устойчивостью к действию большинства современных лекарственных средств, что приводит к развитию тяжелого и трудноизлечимого инфекционного процесса [Lira et al., 2025].

В качестве перспективной терапевтической стратегии рассматривается иммуномодуляция, направленная на активацию эндогенных защитных реакций макроорганизма с целью достижения синергии с антимикробными препаратами [Li et al., 2023]. Инфицирование макрофагов внутриклеточными бактериями стимулирует высвобождение внеклеточных везикул, содержащих биомолекулы как возбудителей, так и клеток хозяина. Такие везикулы проявляют выраженную иммунорегуляторную активность, модулируя механизмы антимикробной защиты организма [Li et al., 2023]. Нами были выделены и охарактеризованы везикулы, секретируемые макрофагами клеточной линии RAW264.7, инфицированными *Mycobacterium abscessus* 19977, а также неинфицированными макрофагами. Выполнен транскриптомный и протеомный анализ полученных везикул. Установлено, что на фоне инфекции везикулы обогащены эукариотическими и бактериальными транскриптами, ассоциированными с активацией провоспалительных реакций в макрофагах. В составе частиц обнаружены длинные некодирующие РНК (например, *DANCR* и *RMRP*), известные как регуляторы иммунного

ответа при туберкулёзной инфекции у человека [Kotey et al., 2024; Han et al., 2020]. Протеомный анализ выявил обогащение белками, участвующими в презентации антигенов, иммунном ответе, воспалении, везикулярном транспорте и регуляции клеточной гибели. Везикулы содержат специфический набор белков (таких как МНС-I, B2m, Casp3, ядерные алармины Hmgb1/3), ключевых для иммунитета, а также микобактериальные антигены. Сравнительный транскриптомный анализ макрофагов, инкубированных с двумя типами везикул, продемонстрировал дифференциальную экспрессию генов, вовлечённых в TLR-опосредованный MyD88-зависимый путь, сигналинг через NOD-подобные рецепторы, а также супрессию митохондриальных функций. Функциональные тесты подтвердили усиление транскрипции провоспалительного хемокина IL-8, повышение уровня гликолиза (ECAR) и индукцию апоптоза в клетках-мишенях. Совокупность данных указывает на выраженные иммуномодулирующие свойства везикул, выделяемых инфицированными макрофагами, и их способность вызывать провоспалительное репрограммирование клеток-реципиентов. Полученные результаты расширяют представления о межклеточной коммуникации фагоцитов при инфекции *M. abscessus* и служат основой для разработки новых терапевтических подходов.

Исследование поддержано грантом РНФ, проект 23-15-00173-П.

Литература

- Герасимова Е.Н., Исматуллин Д.Д., Лямин А.В., Жестков А.В. Общая характеристика, особенности культивирования и антибиотикорезистентности представителей *Mycobacterium fortuitum* group (обзор литературы) // Клиническая лабораторная диагностика. 2021. № 4. Р. 223–228.
- Han Y., Cai Y., Lai X., Wang Z., Wei S., et al. lncRNA RMRP Prevents Mitochondrial Dysfunction and Cardiomyocyte Apoptosis via the miR-1-5p/hsp70 Axis in LPS-Induced Sepsis Mice // Inflammation. 2020. Vol. 43, no. 2. P. 605–618.
- Harada K., Vu Q. T., Nishimura Y., Takeda T., Hamano H., et al. Trends in nontuberculous mycobacterial disease mortality based on 2000-2022 data from 83 countries // Int. J. Infect. Dis. 2025. Vol. 158. P. 107932.
- Kotey S. K., Tan X., Kinser A. L., Liu L., Cheng Y. Host Long Noncoding RNAs as Key Players in Mycobacteria–Host Interactions // Microorganisms. 2024. Vol. 12, no. 12. P. 2656.
- Li Y., Qian Y., Wang N., Qiu D., Cao H., et al. The functions and applications of extracellular vesicles derived from *Mycobacterium tuberculosis* // Biomedicine & Pharmacotherapy. 2023. Vol. 168. P. 115767.
- Lira R. L. S., Nogueira F. A. B., Campos R. F. P. C., Ferreira D. R. M., Roxo P. L. B. T., et al. *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*: Biofilm Formation, Host Immune Response, and Therapeutic Strategies // Microorganisms. 2025. Vol. 13, no. 2. P. 447.
- Murthy M. K., Gupta V. K., Maurya A. P. Diagnosis of nontuberculous mycobacterial infections using genomics and artificial intelligence-machine learning approaches: scope, progress and challenges // Front. Microbiol. 2025. Vol. 16. P. 1665685.

ПЕКТОЛИТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ РОДА *BACILLUS* КАК НЕТИПИЧНЫЕ ПАТОГЕНЫ *PHALAENOPSIS* SP. В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

А.А. Бычкова, Ю.В. Зайцева

Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, Ярославль, Россия, e-mail: anasanby98@mail.ru.

Орхидные – одно из крупнейших семейств цветковых растений, включающее в себя более 600 родов и более тысячи искусственных гибридов. Они широко применяются для декоративных целей, а некоторые представители используются в промышленности, например, для получения лекарственных препаратов. Орхидеи завоевали лидирующие позиции на международном рынке и внесли огромный вклад в экономику ряда развитых и

развивающихся стран, в том числе Нидерландов, Сингапура, Тайланда и Японии. В России промышленное производство этой культуры только начинает развиваться. Международная торговля растениями основана исключительно на гибридах, обладающих высоким потенциалом для коммерциализации.

Особую позицию среди декоративных растений семейства занимает род фаленопсис, обладающий относительно низкой требовательностью к условиям произрастания, по сравнению с другими орхидными, а также высокими эстетическими качествами.

В промышленных масштабах орхидеи получают с использованием технологии микрклонального размножения в культуре *in vitro* из семян, листьев, цветоносов, корней и протокормов, что позволяет получить большое количество здорового посадочного материала за короткий промежуток времени. Однако, данная технология сопряжена с рядом проблем, таких как низкая скорость размножения растений, низкая частота укоренения и высокий риск микробной контаминации. Последняя, несмотря на широкое применение антибактериальных препаратов, приводит к потере до 15% готовой продукции [Зонтиков и др., 2014]. В связи с этим особое значение для индустрии является разработка методов ранней детекции и профилактики бактерий в посадочном материале.

Целью исследования являлось выделение, идентификация и оценка фитотоксичности пектолитических бактерий, выделенных из микрорастений *Phalaenopsis* Blume (Orchidaceae) в культуре *in vitro*.

Бактерии выделяли из 8-9 - месячных микрорастения *Phalaenopsis* sp. в культуре *in vitro* с признаками бактериального поражения. Наличие у штаммов активности ферментов, разрушающих клеточную стенку растений (PCWDEs) (пектолитическую, целлюлазную, амилазную, липазную и протеазную) оценивали с помощью диагностических сред [Carrim et al., 2006, Pasti et al., 1985]. Молекулярно-генетическую идентификацию изолятов проводили по анализу последовательности гена 16S рРНК. Способность бактерий к образованию биопленок и подвижности оценивали по стандартным методикам [de Sousa et al., 2023]. Фитотоксичность штаммов оценивали на горшечных растениях и микрорастениях *Phalaenopsis* sp. в культуре *in vitro*, инокулированных водной суспензией штаммов с содержанием клеток $1 \cdot 10^6$ КОЕ/мл.

Из микрорастений *Phalaenopsis* sp. с признаками бактериальной контаминации и некрозами было выделено 45 бактериальных изолятов. Из них 7 штаммов проявляли пектолитическую активность. Идентификация по последовательности гена 16S рРНК показала, что пектолитические штаммы бактерий относятся к 3 филумам (Bacillota, Actinomycetota, Pseudomonadota) и 5 родам (*Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Paracoccus*, *Achromobacter*, *Microbacterium*). Анализ PCWDEs показал, что штаммы *Bacillus* sp. B3 и B4 кроме пектолитической обладают целлюлазной, амилазной и протеазной активностью, штамм *Stenotrophomonas* sp. 31-6 демонстрирует амилазную и протеазную, штамм *Stenotrophomonas* sp. 31-7 – только протеазную активность. Показано, что штаммы *Bacillus* sp. B3 и *Bacillus* sp. B4 демонстрировали образование сильных биопленок, значения OD составили 2.50 и 3.16 соответственно. Остальные штаммы показали способность к формированию умеренно выраженных биопленок с OD > 0,12. Способностью к свимминг подвижности обладали штаммы *Achromobacter* sp. z5 и *Bacillus* sp. B4, сворминг подвижность наблюдалась у бактерий *Bacillus* sp. B3 и *Bacillus* sp. B4, а также *Paracoccus* sp. z7. Оценка фитотоксичности на взрослых растениях фаленопсиса в условиях эксперимента *in planta* показала, что штаммы *Bacillus* sp. B3 и *Bacillus* sp. B4 вызывают появление сухих пятен-ямок размером 0,5-0,7 см на листьях нижней стороне листа растений. Формирование углубления вызвано разрушением паренхимы листа в следствии действия гидролитических ферментов. На верхней стороне листа следов видимые изменения отсутствуют. Штаммы *Achromobacter* sp. z5, *Paracoccus* sp. z7, *Microbacterium* sp. 26-4, *Stenotrophomonas* sp. 31-6 и *Stenotrophomonas* sp. 31-7 не вызывали изменений в растительных тканях в месте инокуляции.

Влияние штаммов *Bacillus* sp. B3 и *Bacillus* sp. B4 на растения фаленопсисов в культуре *in vitro* показало, что при инъекции в лист штамм *Bacillus* sp. B3 индуцировал появление некрозов у 47% растений, тогда как штамм *Bacillus* sp. B4 не вызывал видимых поражений. При этом при заражении через питательную среду штамм *Bacillus* sp. B3 вызывал поражение у 100% растений с некрозами от одного до всех листьев, тогда как штамм *Bacillus* sp. B4 поражал 88% растений, преимущественно с некрозами одного листа.

Таким образом, пектолитические штаммы *Bacillus* sp. B3 и *Bacillus* sp. B4 способны вызывать симптомы бактериальной инфекции у растений *Phalaenopsis* sp., что свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения механизмов их вирулентности.

Литература

1. Зонтиков Д. Н., Марамохин Э. В. Проблемы стерильности сред и растительных эксплантов культуры *in vitro* лаборатории клонального микроразмножения растений // Молодой ученый. 2014. № 8 (67). С. 317-320. URL: <https://moluch.ru/archive/67/11266>.
2. Carrim A.J.I., Barbosa E.C., Vieira J.D.G. Enzymatic activity of endophytic bacterial isolates of *Jacaranda decurrens* Cham. (Carobinha-do-campo) // Braz. Arch. Biol. Technol. 2006. № 49. 353-359. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000400001>
3. de Sousa, T. Hébraud M. Alves O. Costa E. Maltez L. Pereira J.E. Martins A. Igrejas G. Poeta, P. Study of Antimicrobial Resistance, Biofilm Formation, and Motility of *Pseudomonas aeruginosa* Derived from Urine Samples // Microorganisms. 2023. № 11. 1345. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11051345>
4. Pasti M.B. Belli M.L. Cellulolytic activity of Actinomycetes isolated from termites (Termitidae) gut // FEMS Microbiol. Lett. 1985. № 26. 107-112. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1985.tb01574.x>

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 25-16-20136.

ПРОТЕОГЕНОМНОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *Mycoplasma hominis* КАК ОСНОВА ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ АДАПТАЦИИ В ОРГАНИЗМЕ ХОЗЯИНА.

М.А. Галямина, О.В. Побегуц, М.В. Михайлычева, К.В. Сикамов, Д.Р. Уразаева, И.П. Смирнов, А.Ю. Горбачев

«Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина» Федерального медико-биологического агентства России, Москва, mrogova@gmail.com

Mycoplasma hominis (*M. hominis*) является условным патогеном человека, населяющим урогенитальный тракт. Ее особенностью являются очень маленький геном (около 600 белок-кодирующих генов), отсутствие клеточной стенки, редукция многих метаболических путей и полная зависимость от организма хозяина в получении питательных веществ [Waite, 2005]. Несмотря на то, что *M. hominis* является условным патогеном, она может вызывать хронические инфекции при ослаблении иммунитета хозяина. Известно, что ее инфицирование может приводить к менингиту, пневмонии у новорождённых, описаны случаи вызванных *M. hominis* абсцессов, острого и хронического пиелонефрита, доказана ее связь с бесплодием и невынашиванием плода [Ahmadi, 2016]. Микоплазмы могут адгезироваться к клеткам крови, разноситься по тканям и органам и вызывать генерализованную инфекцию [Rakovskaya, 2013].

Мы провели сравнительный анализ лабораторного штамма H-34 и восьми клинических изолятов *M. hominis*, полученных от пациентов с урогенитальными инфекциями, на уровне морфологии, генома и протеома. Обнаружено, что клинические

изоляты формируют на агаре мини колонии (МС), отличающиеся от типичных (ТС) для *M. hominis* размером (10-30 мкм в отличие от 300 мкм у ТС), очень медленным ростом и суперустойчивостью к антибиотикам (Рис.1, А). Обнаружено, что МС обладают более выраженными вирулентными свойствами: эффективнее прикрепляются и проникают внутрь эукариотических клеток и формируют биопленки. Ранее И.В. Раковской с соавторами были обнаружены такие мини формы *M. hominis* при посевах из разных биологических жидкостей пациентов с урогенитальными инфекциями [Rakovskaya, 2019].

Сравнительный анализ лабораторного штамма и клинических изолятов *M. hominis* позволил выявить несколько молекулярных механизмов, позволяющих адаптироваться в организме хозяина (Рис. 1, В). *M. hominis* может переключать свой фенотип, формируя ТС и МС, это связано с активацией менее эффективного с точки зрения получения энергии пути утилизации нуклеозидов. Значительное снижение скорости роста и формирование форм, подобных персисторам, является основным механизмом устойчивости к антибиотикам. Другим механизмом адаптации является горизонтальный перенос генов (ГПГ) и наличие мобильных генетических элементов в геномах клинических изолятов *M. hominis*, обеспечивающих пластичность генома, необходимого для выживания в условиях стресса. Обнаруженное нами наличие аминокислотных замен в белках гираз, топоизомераз, ферментах метаболизма, которые могут влиять на чувствительность к антибиотикам или на метаболическую активность, также может быть причиной устойчивости. В клинических изолятах значительно меняется представленность мембранных белков, многие из которых являются вариabельными антигенами и белками адгезии, что может быть связано с попыткой избежать действия иммунной системы. Мы отметили наличие довольно большого количества компонентов систем рестрикции-модификации (РМ) на такой маленький геном, что может свидетельствовать о том, что они могут играть не только свою каноническую функцию в уничтожении чужеродной ДНК, но и участвовать в регуляции транскрипции генов или ГПГ, поскольку подобные факты уже отмечались в случае других микоплазм [Vogelgsang, 2025]. Обнаруженное нами наличие у всех изолятов между генами *hsdS* РМ системы I типа генов инвертазы *psrA*, дающей возможность менять сайты метилирования за счет рекомбинации генов *hsdS*, может быть еще одним механизмом адаптации, позволяющим менять сайты метилирования за счет рекомбинации генов *hsdS*, и быть одним из механизмов регуляции экспрессии генов. Мы также обнаружили, что клинические изоляты, формирующие МС четко кластеризуются отдельно от лабораторного штамма и изолятов, формирующих ТС, по нескольким признакам: по аннотации генома, составу компонентов РМ-систем, протеомному профилю и аминокислотной последовательности основного вариabельного антигена *Vaa*, только они имеют аминокислотные замены в ключевых ферментах энергетического метаболизма, в последовательности гираз и топоизомераз. Т.е. принадлежность к ТС или МС определенно связана с протеогеномным профилем *M. hominis*. Формирование более устойчивого фенотипа МС, по-видимому, зависит не только от возможности переключать метаболические пути, но и от специфической регуляции, которая связана не только с работой транскрипционных факторов, которых у *M. hominis* очень мало, а с другими неканоническими механизмами регуляции. В частности, такими механизмами могут быть РМ системы.

На основании полученных результатов мы полагаем, что фенотип МС является наиболее приспособленной формой для существования в условиях постоянного действия неблагоприятных факторов внутри организма хозяина.

Литература

Ahmadi M.H., Mirsalehian A., Sadighi Gilani M.A., Bahador A., Talebi M. Asymptomatic Infection With *Mycoplasma hominis* Negatively Affects Semen Parameters and Leads to Male Infertility as Confirmed by Improved Semen Parameters After Antibiotic Treatment / *Urology*. – 2017. – Vol. 100., – P. 97-102.

Frey J. Mycoplasmas of Animals // В кн.: Razin S., Herrmann R., eds. Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. – Boston, MA: Springer. – 2002. – P. 73–90.

Pobeguts O.V., Galaymina M.A., Sikamov K.V., Urazaeva D.R., Avshalumov A.S., Mikhailycheva M.V., Babenko V.V., Smirnov I.P., Gorbachev A.Y. Unraveling the adaptive strategies of *Mycoplasma hominis* through proteogenomic profiling of clinical isolates // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* - 2024. – Vol. 2., № 14. - P. 1398706

Раковская И. В., Горина Л. Г., Балабанов Д. Н., Левина Га, Бархатова О. И., Гончарова С. А., Гамова Н. А. Генерализованная микоплазменная инфекция у больных и носителей // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2013. – № 2. – С. 37–43.

Rakovskaya I.V. Microcolonies: a novel morphological form of pathogenic *Mycoplasma* spp. / I.V. Rakovskaya, S.A. Ermolaeva, G.A. Levina [et al.] // *J Med Microbiol*. – 2019. – Vol. 68, № 12. – P. 1747–1758.

Vogelgsang L., Vogelgsang L., Dolgopelow-Schmidt M., Nisar A., Bäcker D., Diltney A.T., Henrich B. From sequence to activity: the HgaI-homologous restriction modification system RM.MhoVI of *Mycoplasma hominis* // *BMC Microbiol*. – 2025. – Vol. 25., № 1. – P. 543.

Waites K.B., Talkington D.F. New developments in human diseases due to mycoplasmas. In: Blanchard A., Browning G. *Mycoplasmas: pathogenesis, molecular biology, and emerging strategies for control*. Norwich, United Kingdom: Horizon Bioscience. – 2005. – Ch. 9., P. 289–354.

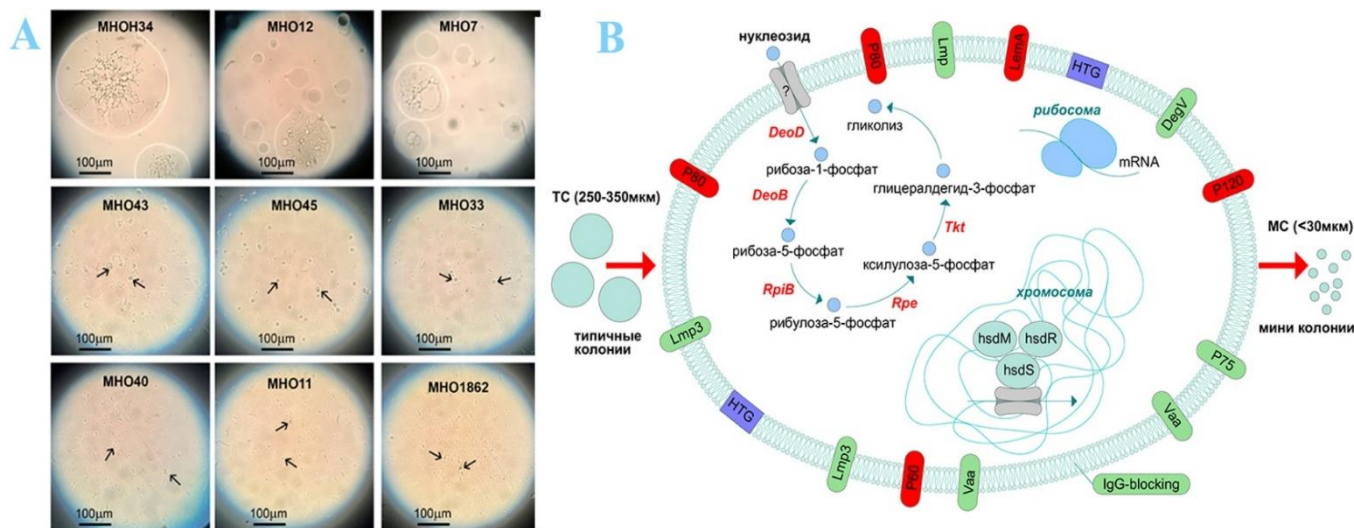


Рис. 1 А - Морфология колоний клинических изолятов МНО12, МНО7, МНО33, МНО43, МНО45, МНО40, МНО11 и МНО1862 *M. hominis* и лабораторного штамма МНОН34, выращенных на твердом агаре. В - Схема демонстрирует механизмы адаптации *M. hominis* в условиях стресса.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИМБИОТИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ АЗОТФИКСИРУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ И РАСТЕНИЯМИ НУТА В УСЛОВИЯХ ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

М.В. Донская

ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур», Орел,
nmaria_87@mail.ru

Нут имеет важное продовольственное, кормовое и агрономическое значение, что делает эту культуру привлекательной для возделывания в различных природно-экологических условиях. Его зерно является ценным источником растительного белка, витаминов и микроэлементов, а растительные остатки обогащают почву азотом, улучшают ее структуру и повышают плодородие. В связи с наметившейся тенденцией изменения

климата в сторону потепления, нут представляет интерес для расширения ареала возделывания в более северных для него регионах, в частности, в условиях Орловской области. Отличительной особенностью бобовых культур, в том числе и нута, является способность в симбиозе с клубеньковыми бактериями фиксировать азот воздуха.

В первых опытах по интродукции нута в условиях Орловской области, клубеньки на корнях растений не образовывались, так как в почве отсутствовали специфические для него клубеньковые бактерии. Предпосевная инокуляция семян приводила к образованию большого количества клубеньков и значительному увеличению семенной продуктивности изученных образцов [Лобков и др., 2011].

После нескольких лет возделывания нута, в почве опытных полей сформировались и накопились популяции специфических для него клубеньковых бактерий. Клубеньки стали образовываться даже в вариантах без инокуляции, после чего данный прием дает лишь небольшое увеличение количества клубеньков, и прибавка продуктивности наблюдается далеко не всегда [Гурьев и др., 2024].

В связи с этим возникла необходимость поиска и изучения наиболее эффективных сочетаний генотипов и комплементарных им высокоэффективных штаммов ризобий для создания устойчивых сорто-микробных систем.

В полевом севообороте лаборатории генетики и биотехнологии ФНЦ ЗБК был заложен опыт по изучению полиморфизма взаимодействия коллекционных образцов нута и разных штаммов специфических клубеньковых бактерий *Mesorhizobium ciceri*, с целью выявления генотипов с повышенной способностью к нодуляции и азотфиксации. Почвы темно-серые лесные. Материалом являлись 20 перспективных образцов нута разных типов (*Desi* и *Kabuli*). Схема опыта включала варианты: контроль (без инокуляции) и предпосевную инокуляцию семян азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri* штамм 527, шт. 522 и шт. 065. Микробиологические препараты были получены из ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии» (г. Санкт-Петербург). Инокуляцию семян проводили в день посева влажным способом. Оценку эффективности препаратов осуществляли по показателям симбиотической деятельности в различные фазы вегетации растений и данным структурного анализа.

Установлено, что клубеньки формировались на корнях растений у всех образцов во всех вариантах опыта, включая контроль. Отсутствие инокуляции и инфицирование корней спонтанными штаммами приводило к образованию мелких клубеньков, как на главном корне, так и на боковых корешках. При инокуляции образцов производственными штаммами основное количество клубеньков было сосредоточено на главном корне, что свидетельствовало об активности штаммов.

Были выявлены различия образцов по способности к клубенькообразованию. Так, предпосевная обработка семян штаммом 527 привела к значительному увеличению по сравнению с контролем числа клубеньков и их массы на корнях растений у сортов Аватар, Совхозный 14, Александрит, образца к-2495 и к-3115. Наибольшее число клубеньков на одном растении в этом варианте отмечено у сорта Александрит - 28 шт.

Инокуляция образцов штаммом 522 существенно увеличила количество клубеньков у линии Л2, образцов к-3115, к-3477, сортов Аватар и Пегас. Максимальное число клубеньков в этом варианте было у сорта Пегас - 28 шт./раст.

Применение штамма 065 способствовало формированию большего числа клубеньков по сравнению с контролем у сорта Аватар и образцов к-2495, к-1684, к-3115. Самое большое число клубеньков в этом варианте наблюдалось у образца к-1684 - 16 шт./раст.

Существенной разницы по нодуляции между образцами типов *Desi* и *Kabuli* не наблюдалось.

Проведенный структурный анализ растений показал, что предпосевная инокуляция семян азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri* штамм 527 привела к увеличению семенной продуктивности растений у сортов Аватар, Крымский, Совхозный

14, Пегас, Юбилейный, Александрит и образцов к-971, к-2495, к-3477, к-1684, к-1234, к-3115 на 12,9...59,8 % по сравнению с контролем.

Применение штамма 522 увеличивало массу семян на растении по сравнению с контролем на 17,3...46,9 % у линий Л2 и С-86, сортов Совхозный 14, Пегас, Юбилейный и образцов к-3477, к-1068.

Предпосевная обработка семян штаммом 065 способствовала повышению семенной продуктивности сортов Аватар, Совхозный 14, Юбилейный и образцов к-2495, к-1234, к-1068 на 34,2...62,0 % к контролю.

В результате проведенных исследований установлено, что наибольшую отзывчивость на предпосевную инокуляцию семян штаммом 527 показали сорта Аватар, Совхозный 14, Александрит и образцы к-2495 и к-3115, значительно превосходящие контроль в этом варианте по числу клубеньков на корнях и семенной продуктивности растений. Применение штамма 522 показало максимальную эффективность у линии Л2, образца к-3477 и сорта Пегас, а штамма 065 – у сорта Аватар и образца к-2495.

Таким образом, применение микробиологических препаратов на основе разных штаммов специфических азотфиксирующих бактерий *Mesorhizobium ciceri* для предпосевной обработки семян нута позволяет проводить скрининг генотипов по эффективности использования взаимодействия с благотворной для растений микрофлорой. Широкой отзывчивостью на применение нескольких штаммов характеризуются сорт Аватар и образец к-2495.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования в рамках государственного задания № FGZZ-2025-0011.

Литература

Гурьев Г.П., Донская М.В., Донской М.М., Якубовская А.И., Каменева И.А., Зубоченко А.А. Влияние микробиологических препаратов и предшественника на формирование симбиотического аппарата, урожайность и агрохимические показатели почвы при возделывании чечевицы, нута и чины // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2024. № 1 (49). С. 10-18.

Лобков В.Т., Донская М.В., Васильчиков А.Г. Повышение эффективности симбиотических систем нута (*Cicer arietinum* L.) // *Вестник Орловского государственного аграрного университета*. 2011. № 3 (30). С. 39-42.

АНАЛИЗ ГЕНОМА ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО БАКТЕРИАЛЬНОГО СИМБИОНТА ГУБКИ *HALISARCA DUJARDINII*

В.М. Зубарев^{1,2}, О.И. Кравчук², Ю.В. Люпина², Д.А. Сутормин¹, А.Н. Русанова², М.Т. Ри¹.

¹АНО ВО Сколковский Институт Науки и Технологий, Vasiliy.Zubarev@skoltech.ru

²ФГБУН Институт Биологии Развития им. Н.К.Кольцова РАН

По данным электронной микроскопии, у морской губки *Halisarca dujardinii* есть внутриклеточные симбиотические бактерии, передающиеся от личинок ко взрослым губкам [Ereskovsky et al., 2011]. В настоящей работе, в ходе проекта по секвенированию и сборке полного генома губки [Zubarev et al., 2026], была получена последовательность генома симбиотической бактерии. Последовательность генома бактерии обнаруживается при сборке генома губки различными сборщиками (MaSurCa, NextDenovo). Мы выбрали из них тот вариант, который обладает наибольшей полнотой по данным метода BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) - в сборке присутствуют 95.7% (111/116)

консервативных ортологов. По данным таксономического анализа 16S рРНК этой бактерии, она принадлежит к порядку Rhodospirillales.

Чтобы установить закономерности распространения этой бактерии в образцах губок из различных географических локаций и стадий развития, мы картировали широкий набор данных секвенирования РНК, имеющийся в открытом доступе для *H. dujardinii* в базе данных NCBI SRA. Стоит отметить, что существенная часть этого набора данных была получена методом polyA-селекции и благодаря этому обогащена эукариотической мРНК. Тем не менее, результаты картирования показали, что РНК бактерии присутствует в губке во всех географических локациях сбора и на всех стадиях развития, включая самые ранние (дробление и личинка дисферула). Картирование прочтений РНК единичных клеток (scRNA-seq) показывает, что бактерия присутствует во всех типах клеток, хотя по данным транскрипционной электронной микроскопии у данной губки и выделяются специальные клетки-бактериоциты [Ereskovsky et al., 2011].

Собранный геном симбиотической бактерии имеет длину 2.93 Мб и содержит 2710 предсказанных белок-кодирующих генов (рис. 1). На основании этого набора генов было проведено предсказание метаболических путей бактерии с помощью программного пакета METABOLIC [Zhou et al., 2022]. Набор генов в геноме даёт основания утверждать, что тип метаболизма бактерии - хемоорганогетеротрофия: присутствуют гены ферментов базовых путей окислительного гетеротрофного метаболизма - гликолиза, цикла Кребса, комплексов I-IV дыхательной цепи; отсутствуют пути биосинтеза некоторых аминокислот (метионина, триптофана, фенилаланина, тирозина). Имеется путь восстановления азота от нитрата до N₂O, а также восстановления и окисления железа (между степенями окисления +2 и +3). Ранее при исследовании *H. dujardinii* было показано, что симбиотические бактерии могут принимать участие в метаболизме железа [Adameyko et al., 2021], а также в метаболизме дофамина [Kravchuk et al., 2025] хозяина.

Данное исследование поддержано грантом РНФ №25-14-00131 (руководитель Ю.В. Люпина).

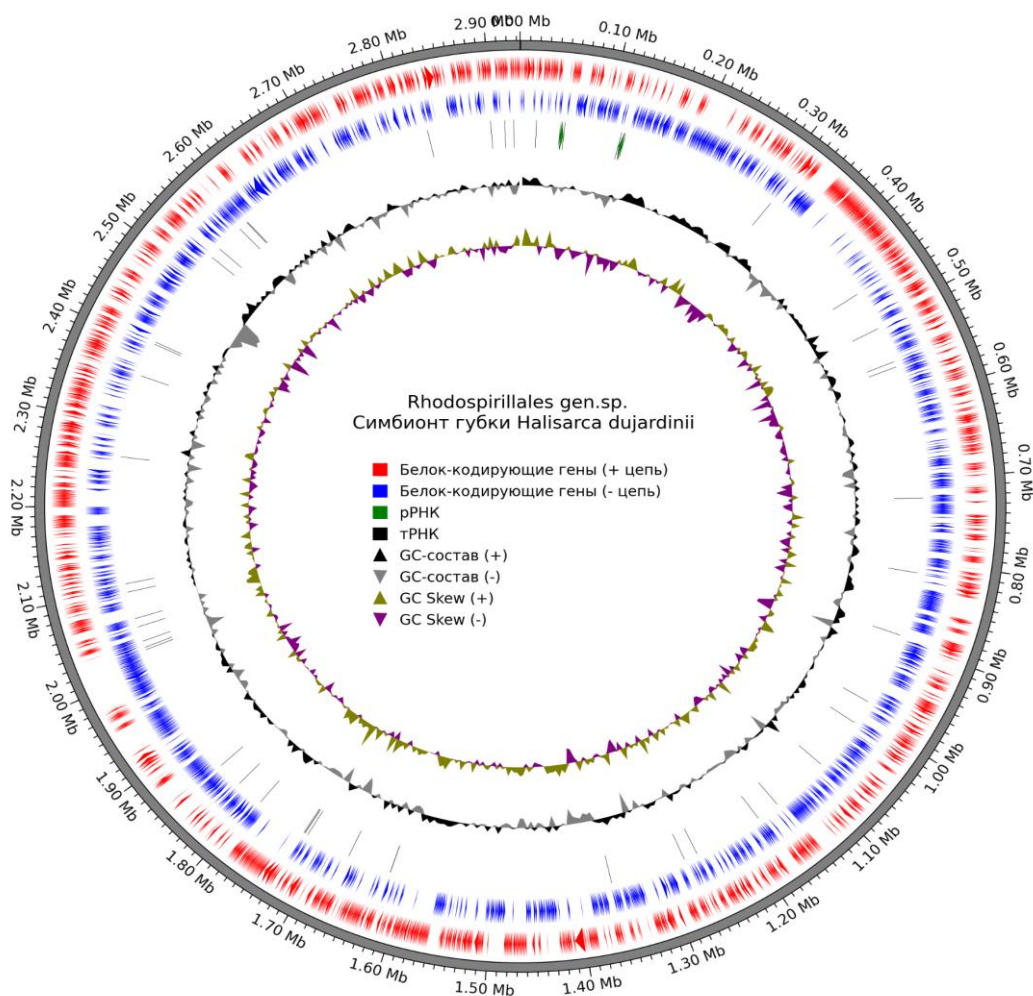


Рис. 1. Диаграмма, показывающая расположение белок-кодирующих генов на (+) и (-) - цепях ДНК, расположение тРНК, рРНК, GC-состав и “GC skew” в сборке генома бактериального симбионта губки *H. dujardinii*.

Литература

1. Adameyko KI, Burakov AV, Finoshin AD, Mikhailov KV, Kravchuk OI, Kozlova OS, et al. Conservative and Atypical Ferritins of Sponges. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 11;22(16):8635. doi:10.3390/ijms22168635
2. Ereskovsky AV, Lavrov DV, Boury-Esnault N, Vacelet J. Molecular and morphological description of a new species of *Halisarca* (Demospongiae: Halisarcida) from Mediterranean Sea and a redescription of the type species *Halisarca dujardini*. *Zootaxa*. 2011 Feb 18;2768(1). doi:10.11646/zootaxa.2768.1.2
3. Kravchuk OI, Finoshin AD, Nikishina YO, Melnikova VI, Kublanov IV, Sutormin DA, et al. Evolutionary conservation of dopamine-mediated cellular plasticity in Arctic sponges (Porifera). *Front Mol Biosci*. 2025 Nov 17;12:1671771. doi:10.3389/fmolb.2025.1671771
4. Zhou Z, Tran PQ, Breister AM, Liu Y, Kieft K, Cowley ES, et al. METABOLIC: high-throughput profiling of microbial genomes for functional traits, metabolism, biogeochemistry, and community-scale functional networks. *Microbiome*. 2022 Dec;10(1):33. doi:10.1186/s40168-021-01213-8
5. Zubarev V, Cherkasov A, Sidorov L, Adameyko KI, Finoshin AD, Ryabova A, et al. Chromosome-level genome assembly of the sponge *Halisarca dujardinii*. *Sci Data*. 2026 Apr 21. doi:10.1038/s41597-026-07161-y

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ И КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI* В ОТНОШЕНИИ ЭРИТРОЦИТОВ

В.В. Кадыко¹, П.А. Селиванова¹, М.О. Карипова², Д.А. Кочергина¹, М.В. Кузнецова^{1,2}

¹ «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия, kadyko00@bk.ru, polina.selivanova2003@gmail.com, kocdas@yandex.ru, mar19719@yandex.ru

² Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Российская Федерация, Пермь, Россия, mari.karipova@yandex.ru

Ключевым фактором развития инфекционного процесса является адгезия – прикрепление микроорганизмов к клеткам хозяина. Основную роль на этом этапе играют пили или фимбрии, а также ряд других адгезинов, локализованных на клеточной поверхности бактерий [Krachler, Orth, 2013]. Многие из известных адгезинов (FimH, Р-фимбрии, Afa/Dr) *Escherichia coli* способны взаимодействовать не только с рецепторами эпителия кишечника, но и с поверхностью эритроцитов, что используется в лабораторной диагностике как косвенный индикатор колонизационной активности и патогенного потенциала штамма [Johnson, Stell, 2000]. **Цель исследования** – оценка уровня адгезии к эритроцитам различных видов у штаммов *Escherichia coli*, выделенных из разных источников, и анализ связи адгезии с наличием генов, ассоциированных с вирулентностью.

Методы и материалы. В работе использовали штаммы *E. coli* (n = 77), выделенные ранее из различных источников: клинические штаммы уропатогенной *E. coli* (UPEC) (n = 32), изолированные из материала пациентов с инфекцией мочевыводящих путей, штаммы патогенной для птиц *E. coli* (APEC) (n = 28), выделенные из органов цыплят-бройлеров с признаками колибактериоза, и фекальные штаммы *E. coli* (FEC) (n = 17), полученные от здоровых коров сельскохозяйственных предприятий и частных хозяйств Пермского края. Уровень специфической адгезии (СПА) бактерий определяли согласно методике [Брилис и др., 1986] с видоизменениями на панели эритроцитов трех видов: человека (группа 0(I) Rh+), крупного рогатого скота (быка) и птицы (курицы). Детекцию генов, ассоциированных с вирулентностью, осуществляли методом ПЦР. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Microsoft Office Excel и среды Python 3.12 с библиотеками SciPy, Pandas, Matplotlib, Seaborn.

Результаты. У штаммов UPEC, APEC и FEC выявлены значимые различия в показателях адгезии к эритроцитам (H = 6,82; H = 36,89; и H = 25,12 соответственно, $df = 2$, $p < 0,05$). Для клинических штаммов UPEC медиана СПА к эритроцитам человека составила 2,24 [Q1–Q3: 1,44–3,62]; к куриным эритроцитам – 2,16 [2,12–2,36]; к бычьим – 1,64 [1,56–1,68]. Штаммы APEC продемонстрировали максимальный уровень адгезии к куриным эритроцитам – 2,21 [1,98–3,25], показатели адгезии к человеческим и бычьим эритроцитам составили 1,87 [1,61–2,24] и 1,32 [1,20–1,56] соответственно. FEC наиболее активно взаимодействовали с бычьими эритроцитами: СПА составил 2,08 [2,00–2,84]. Адгезия этих штаммов к человеческим и куриным эритроцитам была ниже – 1,31 [1,28–1,69] и 1,54 [1,42–1,77] соответственно. Таким образом, каждая группа бактерий демонстрировала максимальную адгезию к эритроцитам того вида животного, от которого была изолирована.

Проведена оценка связи между наличием детерминант патогенности и уровнем адгезии штаммов к видоспецифичным эритроцитам (для UPEC – человеческим, для APEC – куриным, для FEC – бычьим) (Рисунок). Среднее количество генов патогенности на штамм в группе UPEC и APEC составило 4,5 и 6,3 соответственно. Несмотря на отсутствие корреляции между суммарным патогенным профилем и уровнем специфической адгезии, выявлена связь последней с некоторыми детерминантами патогенности. Для UPEC культур обнаружена корреляция с генами *fimH*, *parC* и *sfaDE* ($p < 0,05$ для всех сравнений, U -

критерий Манна–Уитни). Присутствие *iroN* и *hlyF* в АРЕС культурах характеризовало их как высокоадгезивные. Следует отметить, что в группе UPEC более высокая адгезия была связана преимущественно с генами адгезинов, тогда как в АРЕС аналогичная тенденция наблюдалась у штаммов, несущих гены факторов системной инфекции. Группа FEC характеризовалась наименьшим средним количеством генов патогенности на штамм – 2,88. Носители генов *papC* и *iutA* демонстрировали более низкую адгезивную активность к бычьим эритроцитам по сравнению со штаммами, не содержащими эти гены ($p < 0,05$), тогда как наличие *sfaDE* и *papC* определяло высокий уровень адгезии к эритроцитам человека. Обнаружение в геноме FEC *papC* и *afa/dra*, а также *sfaDE*, обуславливающих адгезию к эпителиальным клеткам мочевыводящих путей, клеткам почечных канальцев и эндотелию сосудов, свидетельствует о зоонозном потенциале фекальных культур здоровых коров.

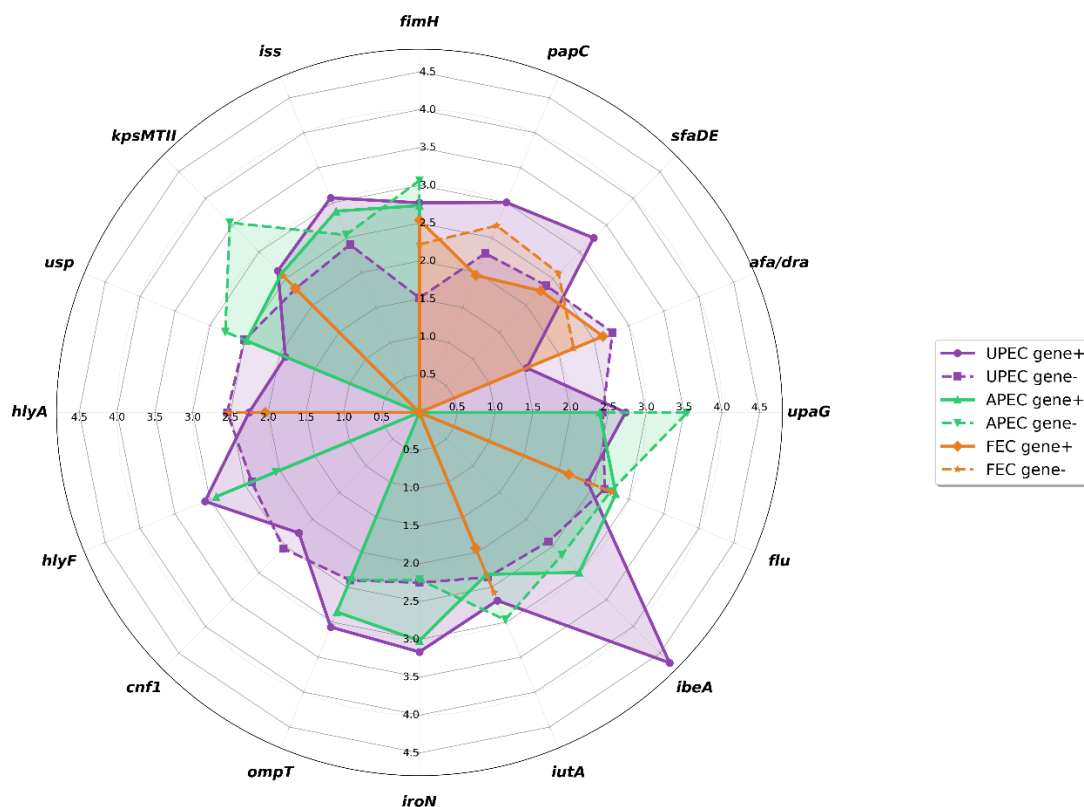


Рисунок. Диаграмма связи уровня специфической адгезии (СПА) с наличием генов патогенности в штаммах *E. coli* трех групп: UPEC, APEC, FEC

Заключение. Проведенное исследование показало, что штаммы *E. coli* проявляют наиболее высокую адгезивную активность в отношении эритроцитов, соответствующих биологическому виду хозяина. Выявленную специфичность можно использовать в качестве биомаркера для идентификации источников микробного загрязнения объектов окружающей среды, почвы и водных ресурсов. Несмотря на отсутствие корреляции между суммарным патогенным профилем и уровнем адгезии, установлена умеренная положительная связь между адгезивной способностью и отдельными генами патогенности.

Исследование выполнено при финансовой поддержке НИОКТР №124020500028-4.

Литература

1. Johnson J.R., Stell A.L. Extended virulence genotypes of *Escherichia coli* strains from patients with urosepsis in relation to phylogeny and host compromise // J. Infect. Dis. 2000. Vol. 181, № 1. P. 261-272.
2. Krachler A.M., Orth K. Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy // Virulence. 2013. Vol. 4, № 4. P. 284-294.
3. Брилис В.И., Брилене Т.А., Аристовская Г.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивных свойств микроорганизмов // Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 210-212.

МИКРОБИОТА КОЖИ ЧЕЛОВЕКА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ РЕГУЛЯЦИИ

К.Д. Каллистова¹, Л.А. Белобородова¹, А.Е. Маторина¹, К.С. Должикова¹, К.И. Киенская¹, И.А.Буторова¹

¹Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Москва, ksunyuaaa@mail.ru

Возможность модуляции микробиоты кожи для поддержания ее здоровья является одним из перспективных направлений в косметологии, клинической дерматологии и регенеративной медицине. Наиболее изученной областью с большой доказательной базой является применение лизатов различных микроорганизмов. В основном это лизаты лакто- и бифидобактерий, пропионовокислых бактерий. Встречаются исследования о положительном воздействии на микробиоту кожи лизата бактерий *Vitreoscilla filiformis* и лизата дрожжей сахаромикетов [Gueniche et al., 2008, Mahe et al., 2013, Seite et al, 2016, Seite et al, 2017].

Целью настоящего исследования являлся поиск микроорганизмов, продуцирующих эффективные биологически активные вещества, оказывающие модулирующее влияние на микробиоту кожи. В рамках данного исследования было изучено влияние на микробное сообщество кожи рук биологически активных веществ, продуцентами которых являются следующие микроорганизмы: бактерии *Corynebacterium stationis* ВКПМ-B-10645, дрожжи *Rhodotorula lactosa* ВКПМ-Y-3868 и базидиальные грибы *Pleurotus ostreatus* ВКПМ-F-276. Выбор данных микроорганизмов был сделан на основе выводов, полученных при анализе научной и патентной литературы. Сбор биоматериала проводили путем смывов у добровольцев, заполнивших информированное согласие на участие в исследованиях. Смывы с поверхности рук проводили согласно методам санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности [МР 4.2.0220-20]. Полученные смывы использовали в качестве посевного материала в опытах *in vitro* при засеве колб с жидкой питательной средой. В качестве активных компонентов использовали следующие продукты: культуральную жидкость, полученную при культивировании *C. stationis*, и содержащую продукты метаболизма бактерий с остаточными количествами компонентов питательной среды, не обладающей собственной биологической активностью; комплекс БАВ из дрожжей *R. lactosa*, который получали в процессе ферментативного гидролиза биомассы дрожжей; углеводный комплекс базидиального гриба *P. ostreatus*, включающий углеводные экзо-компоненты из культуральной жидкости и эндо-компоненты из биомассы гриба, выращенного методом глубинного культивирования в шейкере-инкубаторе и смешанные в соотношении 1:1.

В ходе исследований было установлено, что в зависимости от состояния здоровья кожи рук и состава микробного сообщества продукты метаболизма *C. stationis* оказывают разное воздействие. При введении в среду культивирования 0,1 об.% культуральной жидкости для сухой кожи рук отмечалось ингибирование роста микрофлоры на 6,2% и снижение ее биоразнообразия. Для кожи рук, склонной к дерматиту, отмечался противоположный эффект, а именно, стимулирование роста кожной микрофлоры в среднем на 30% и увеличение ее биоразнообразия. Для нормальной кожи рук влияния продуктов метаболизма *C. stationis* обнаружено не было. Характер влияния углеводного комплекса базидиального гриба *P. ostreatus* на микробиоту кожи в концентрации 0,1 об.% оказался практически аналогичным: для нормальной кожи рук влияния практически не наблюдалось, для сухой кожи рук отмечалось ингибирование роста микрофлоры на 12,5% и уменьшение ее биоразнообразия, для кожи рук, склонной к дерматиту отмечалось значительное стимулирование роста (+38,8%) и увеличение ее биоразнообразия.

Изучение влияния на микробиоту кожи рук комплекса БАВ, полученного на основе дрожжей *R. lactosa* проводили на проблемной коже с признаками дерматита. В ходе

исследований было установлено, что данный комплекс оказал стимулирующее влияние на микробиоту кожи в условиях проведения эксперимента. Для оценки влияния комплекса БАВ на отдельные виды кожных бактерий была составлена модель смешанной культуры включающая штаммы *Staphylococcus epidermidis* ВКПМ-B-12635, *Corynebacterium stationis* ВКПМ-B-10645, *Micrococcus luteus* ВКПМ-B-7845 и *Staphylococcus aureus* FDA 209P, взятые в равном соотношении 1:1:1:1. Количество вводимого комплекса БАВ в среду составило 0,0125 об.%. Через 24 часа культивирования из образцов были сделаны рассевы на подготовленную агаризованную среду и подсчитано количество каждого вида бактерий. Как показали исследования комплекс БАВ из дрожжей *Rhodotorula lactosa* ВКПМ-Y-3868 оказал избирательное влияние на рост отдельных видов бактерий в составе модельной смешанной культуры (рисунок 1)

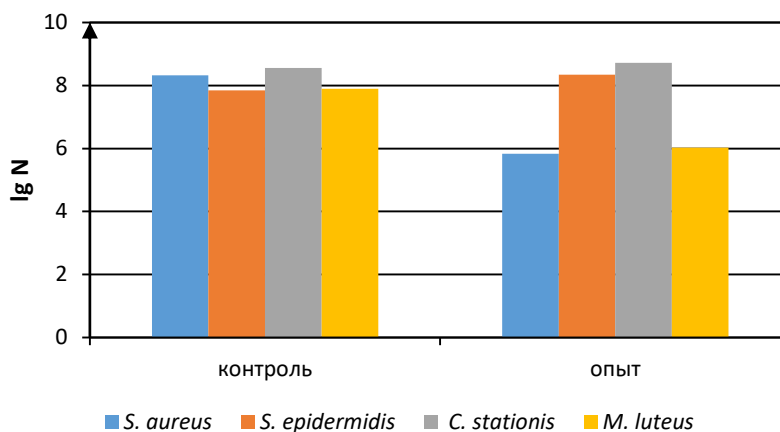


Рисунок 1 – Гистограмма влияния комплекса БАВ из дрожжей *Rhodotorula lactosa* ВКПМ-Y-3868 на рост отдельных видов кожной микрофлоры в составе модельной смешанной культуры в условиях *in vitro*

Таким образом, полученные результаты исследований дают основание рассматривать микроорганизмы *Corynebacterium stationis* ВКПМ-B-10645, дрожжи *Rhodotorula lactosa* ВКПМ-Y-3868 и базидиальные грибы *Pleurotus ostreatus* ВКПМ-F-276 в качестве потенциальных продуцентов биологически активных веществ, позволяющих регулировать состав микробиоты кожи, что открывает новые горизонты для исследований и применения данных БАВ в области косметологии и дерматологии.

Литература

МР 4.2.0220-20 Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды. Методические рекомендации.

Gueniche A., Knaudt B., Schuck E., Volz T., Bastien P., Martin R. et al. Effects of nonpatho-genic gram-negative bacterium *Vitreoscilla filiformis* lysate on atopic dermatitis: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical study. Br J Dermatol 2008; 159(6): 1357—63.

Mahe Y.F., Perez M-J., Tacheau C., Fanchon C., Martin R., Rousset F., Seite S. A new *Vitreoscilla filiformis* extract grown on spa water enriched medium activates endogenous cutaneous antioxidant and antimicrobial defenses through a potential Toll-like receptor 2/protein kinase C, zeta transduction pathway. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2013;(6):191–196.

Seite S, Oresajo C, Using a specific emolent to manage skin microbiome disbiosis. J Am Acad Dermatol. 2016;74(5) AB89, Supplement1.

Seite S, Zelenkova H, Martin R. Clinical efficacy of emollients in atopic dermatitis patients-relationship with the skin microbiota modification. Clin Cosmet Investig Dermatol. 2017;10,25-33.

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЛОКАЛИЗАЦИИ ГЕНОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ В ПЛАЗМИДАХ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Е.С. Клименко¹, В.Ю. Топорков^{1,2}, Н.Л. Белькова¹, У.М. Немченко¹, Н.Е. Смурова¹,
Р.Е. Зугеева¹

¹ ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск,
klimenko.elizabet@gmail.com

² ФГБОУ ВО «Иркутский национальный исследовательский технический
университет», Иркутск, i@valerii-toporkov.ru

Синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) — является важным нозокомиальным патогеном. Бактерия относится к группе ESKAPE и обладает высокой природной устойчивостью к антибиотикам и широким арсеналом факторов вирулентности. Ключевую роль в распространении приобретённых детерминант резистентности и патогенности играют мобильные генетические элементы (к которым относятся и плазмиды), способные переносить целые кассеты генов в рамках горизонтального переноса. Кроме того, микроорганизм формирует биоплёнки, препятствующие иммунному ответу человека и действию антибиотиков. Несмотря на актуальность проблемы, геномные различия нозокомиальных штаммов остаются недостаточно изученными [Немченко, 2022; Немченко, 2025].

Цель работы — аннотировать плазмиды коллекционных штаммов *P. aeruginosa* и выполнить биоинформатический анализ локализованных в них генов вирулентности и устойчивости к антимикробным препаратам.

Объектами исследования служили 27 коллекционных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в г. Иркутске. Биоинформатический анализ проводился с использованием платформы Galaxy. Геномы собраны методом *de novo* инструментом SPAdes. Аннотация выполнена с использованием Prokka и Bakta. Плазмидные контиги идентифицированы посредством MOB-Recon. Гены вирулентности определялись VFAnalyzer (VFDB), детерминанты антибиотикорезистентности — ABRicate (ResFinder).

В результате сборки *de novo* и аннотации геномов 27 штаммов идентифицировано 30 плазмидных контигов. Было выявлено множество детерминант вирулентности на плаزمидях (рисунок).

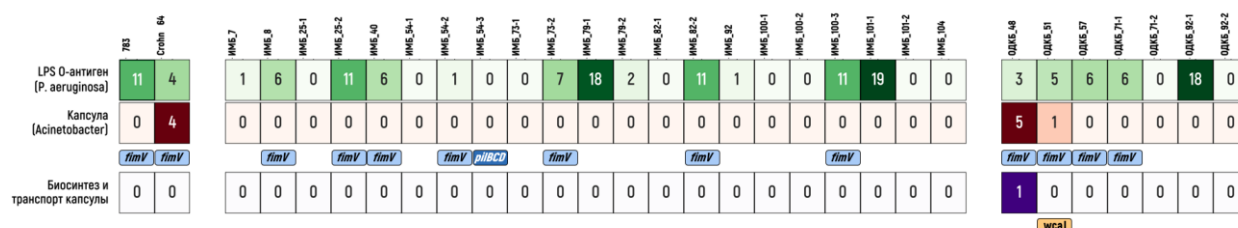


Рисунок – Тепловая карта распределения аннотированных генов в плазмидях штаммов *P. aeruginosa*.

Наиболее распространённой категорией оказались локусы, гомологичные генам биосинтеза липополисахаридного О-антигена (63% плазмид), при этом число таких локусов в отдельных репликациях достигало 18–19 (штаммы ИМБ-79-1, ИМБ-101-1, ОДКБ-92-1). Гены, связанные с системами секреции IV типа и конъюгативным переносом выявлены в 14 плазмидях (47%). Гены капсульного биосинтеза встречались реже — в 10% репликаций.

Сравнение с базами NCBI показало, что более 97% гомологичных последовательностей в геномах депонированных штаммов *P. aeruginosa* имеют хромосомную локализацию, что согласуется с работами других исследователей [Немченко, 2025]. Обнаружение данных локусов на плазмидях коллекционных штаммов может

свидетельствовать об их горизонтальном переносе в составе мобильных генетических элементов, однако требует проведение дополнительных исследований.

Гены антибиотикорезистентности выявлены на плаزمидах пяти штаммов. Особое внимание заслуживает малая плазида штамма ОДКБ-71-2 (10 837 п.н.), несущая кластер из трёх функционально различных детерминант: *aac(3)-Ic* (устойчивость к аминогликозидам), *cmIA1* (хлорамфениколу) и *sul1* (сульфаниламидам). Совместная локализация этих генов на одном репликоне потенциально детерминирует фенотип множественной лекарственной устойчивости. При горизонтальном переносе такого репликона реципиент способен получить генотип мультирезистентности [Чеботарь, 2017].

Дополнительно в геномах четырёх штаммов (ИМБ-79, ИМБ-54-3, ИМБ-101-2, ОДКБ-92) обнаружен ген *crpP*, кодирующий фосфотрансферазу, которая модифицирует ципрофлоксацин и снижает чувствительность к фторхинолонам [Belkova, 2025]. Поскольку гены семейства *crpP* преимущественно ассоциированы с мобильными конъюгативными элементами [Zhu, 2021], выявление данного гена у штаммов из двух независимых стационаров представляет интерес и свидетельствует об их широком распространении в популяции клинически значимых штаммов *P. aeruginosa* региона. Это может указывать как на горизонтальный перенос, так и на независимое приобретение гена в рамках локальной циркуляции резистентных бактерий.

Анализ плазмид исследованных штаммов *P. aeruginosa* выявил присутствие гомологов генов вирулентности, которые обычно локализуются в хромосомах, с преобладанием локусов биосинтеза О-антигена липополисахарида (63% плазмид) и генов фимбрий IV типа (47% плазмид). Эпидемиологическую значимость имеет зафиксированная в штамме ОДКБ-71 ко-локализация генов резистентности, а также выявление гена *crpP*, ассоциированного со снижением чувствительности к фторхинолонам, у плазмид штаммов из двух независимых стационаров. Полученные результаты обосновывают необходимость геномного мониторинга циркулирующих клонов *P. aeruginosa* в клинических стационарах региона.

Литература

Немченко У.М., Белькова Н.Л., Клименко Е.С., Зугеева Р.Е., Сухорева М.В., Савилов Е.Д. Влияние тобрамицина на биоплёнкообразующие формы изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2025. Т. 179. № 4. С. 446-451.

Немченко У.М., Белькова Н.Л., Клименко Е.С., Смурова Н.Е., Зугеева Р.Е., Синьков В.В., Савилов Е.Д. Генетический потенциал к образованию биопленок клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025. Т. 29. № 4. С. 594-599.

Немченко У.М., Ситникова К.О., Белькова Н.Л., Григорова Е.В., Воропаева Н.М., Сухорева М.В., Сухарева Е.С., Савилов Е.Д. Влияние антимикробных препаратов на биопленкообразование *Pseudomonas aeruginosa* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022. Т. 26. № 5. С. 495-501.

Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А., Маянский Н.А. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам, и их регуляция // KMAX. 2017. Т. 19. № 4. С. 308.

Belkova N., Nemchenko U., Klimenko E., Smurova N., Zugeeva R., Sukhoreva M., Sinkov V., Savilov E. Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Antibiotics During Long-Term Persistence in Patients with Cystic Fibrosis // Antibiotics. 2025. Vol. 14. No. 3. P. 302.

Zhu Z., Yang H., Yin Z., Jing Y., Zhao Y., Fu H. et al. Diversification and prevalence of the quinolone resistance *crpP* genes and the *crpP*-carrying Tn6786-related integrative and conjugative elements in *Pseudomonas aeruginosa* // Virulence. 2021. Vol. 12. No. 1. P. 2162–2170.

УРЕАЗЫ САТЕЛЛИТНОЙ МИКРОБИОТЫ ТУБЕРКУЛЁЗНЫХ ОЧАГОВ: МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ ИЛИ ФАКТОР ПАТОГЕННОСТИ?

С.В. Кулинич, Е.А. Орлова, О.Б. Огарков

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск,
kulinich.sophie@gmail.com

Ферменты уреазы катализируют гидролиз мочевины, которая является основным конечным продуктом азотистого обмена и присутствует в плазме крови и других тканях человека. Мочевина может служить питательным субстратом для микроорганизмов, экспрессирующих уреазу, а аммиак используется для синтеза аминокислот и других азотсодержащих соединений. Образование аммиака и углекислого газа в результате гидролиза мочевины повышает уровень pH, нейтрализуя кислую среду и способствуя колонизации и выживанию патогенов, например, на слизистой оболочке желудка. Традиционно уреазы рассматриваются как фактор вирулентности, который присутствует у широкого круга патогенов, включая респираторных.

При туберкулёзе в лёгких образуются гранулёмы (туберкулёмы) – структуры, состоящие из иммунных клеток, окружающих *Mycobacterium tuberculosis* и сателлитные микроорганизмы. По мере созревания очагов pH их некротического содержимого (казеума) меняется от кислого до нейтрального. Ранее из клинического материала нами были выделены и охарактеризованы микроорганизмы сателлитной микробиоты туберкулёзного очага (Кондратов и др., 2025). Была сформулирована концепция развития в ходе гранулёматозного воспаления ряда процессов, сходных с сукцессией в природных микробных сообществах и связанных с изменениями условий некротической среды и конкуренцией между бактериями за доступные питательные вещества (Ogarkov et al., 2025). Гипотезой данного исследования стало предположение, что сателлитные микроорганизмы туберкулём могут создавать благоприятные условия для персистенции микобактерий за счёт локального повышения pH казеума.

Для проверки был выбран специфичный ингибитор уреазы – ацетогидраксмовая кислота (АНА), которая связывается с активным центром фермента, конкурируя с мочевиной. Вещество используется в клинической практике и одобрено для лечения хронических инфекций, вызванных уреазопродуцирующими бактериями, что делает перспективными подобные исследования в контексте лёгочной патологии. Таким образом, целью работы стала оценка уреазной активности микроорганизмов, выделенных из туберкулёзных очагов.

Выделение микроорганизмов сателлитной микробиоты из хирургического материала и экстракцию ДНК проводили, как описано ранее (Кондратов и др., 2025). Видовую идентификацию микроорганизмов проводили секвенированием фрагмента гена 23S rПНК. Для измерения уреазной активности бактерии в экспоненциальной фазе роста инкубировали с АНА (0,25-10 мМ) в течение 15 мин, а затем с мочевиной в конечной концентрации 50 мМ. Активность фермента оценивали колориметрически с использованием реактива Несслера по накоплению иона аммония при длине волны 450 нм через заданные интервалы времени (0, 30, 60 и 90 минут). Данные нормировали на массу сухого клеточного осадка. В качестве калибровки использовали раствор хлорида аммония.

Ранее выделенные штаммы принадлежали к следующим видам: 2204 – *Corynebacterium kefirresidentii*, 2336 – *C. ureicelerivorans*, 2206/1 и 2206/2 – *Staphylococcus epidermidis*, 2404, 2409 и 2411 – *S. hominis*, 2414 – *S. epidermidis*. Новые изолированные штаммы 2522 и 2525 были идентифицированы как *Streptomyces* sp. и *Heyndrickxia oleronia*. Исследуемые микроорганизмы значительно различались по наличию и активности уреаз (рис.), что позволило разделить их на две группы. В первую вошли высокоактивные штаммы 2206/1, 2206/2, 2414, 2404, 2409, 2411 и 2336. У них наблюдалась интенсивная ферментативная активность, возрастающая с течением времени. У штаммов 2404 и 2411 добавление ингибитора в концентрации 0,25 мМ практически не влияло на активность, заметное ингибирование начиналось от концентрации 1 мМ. При концентрации 10 мМ активность фермента подавлялась у всех представителей первой группы. Во вторую группу вошли штаммы 2204, 2522 и 2525. Для них была характерна крайне низкая уреазная активность, при этом временная динамика отсутствовала: показатели активности оставались стабильно низкими на протяжении всего времени инкубации независимо от добавления ингибитора.

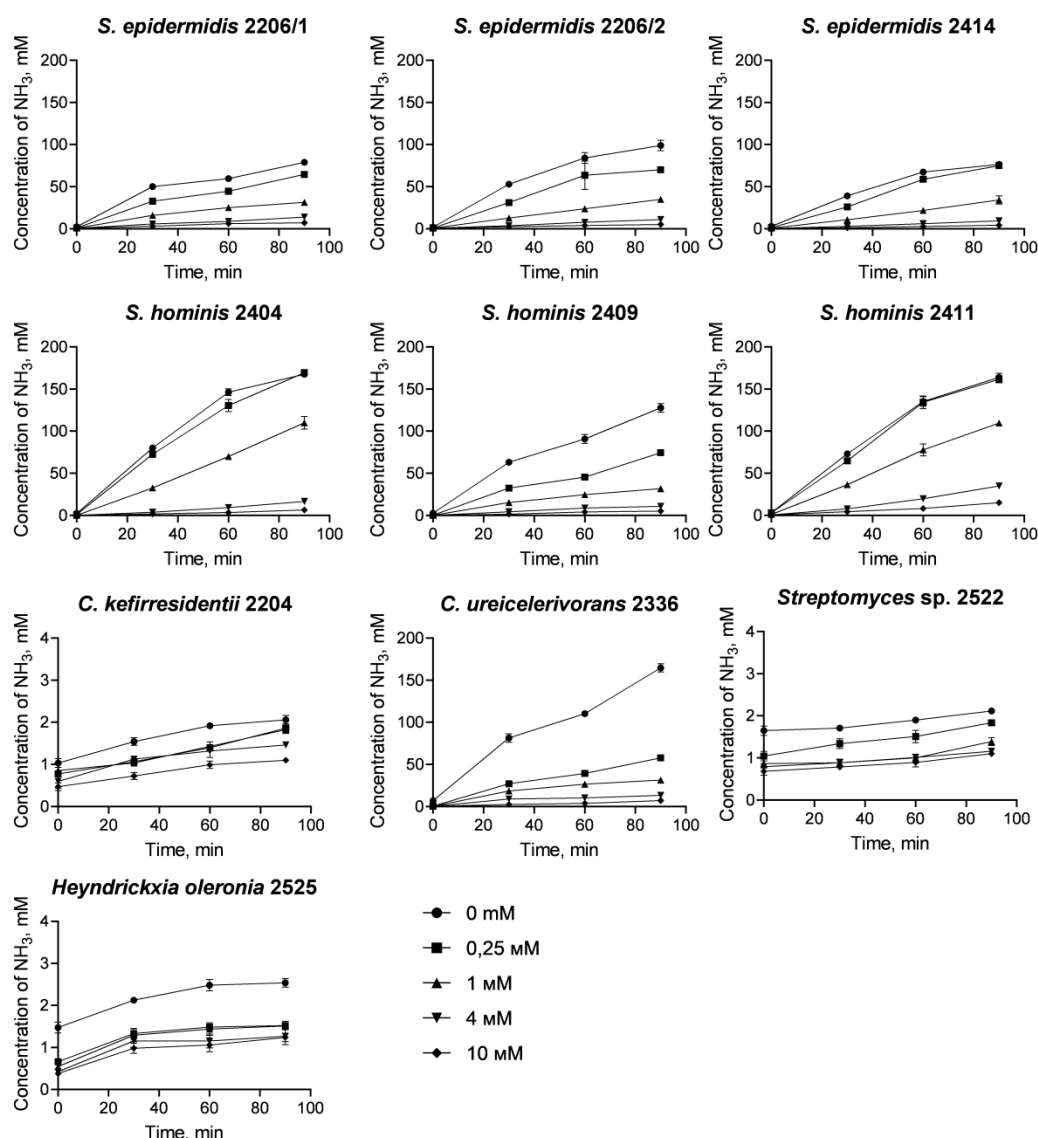


Рисунок 1. Динамика уреазной активности (концентрация NH_3 , mM, нормированная на бактериальную биомассу) клинических изолятов.

Таким образом, высокая уреазная активность некоторых представителей сателлитной микробиоты может рассматриваться как потенциальный фактор адаптации и патогенности, вносящий вклад в персистенцию микобактерий в туберкулёзных очагах.

Литература

1. Кондратов И.Г., Огарков О.Б., Синьков В.В. и др. Прогнозирование метаболического профиля и факторов вирулентности факультативно-анаэробных бактерий из очагов туберкулёзного некроза на основе данных полногеномного секвенирования // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2025. Т. 179, № 4. С. 456-460. DOI: 10.47056/0365-9615-2025-179-4-456-460.
2. Ogarkov O., Orlova E., Suzdalnitsky A., Mokrousov I. Microbiota of the Lung Tuberculoma: Paucibacillary Bacterial Community // International Journal of Mycobacteriology. 2025. Vol. 14, No. 3. P. 209-218. DOI: 10.4103/ijmy.ijmy_126_25.

ОСОБЕННОСТИ ЭКСЦИЗИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ОСНОВАНИЙ ДНК МИКРООРГАНИЗМА *DESULFOBULBUS ORALIS*

Л. М. Кулишова¹, А. В. Юдкина¹, Д. О. Жарков¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения
Российской академии наук, г. Новосибирск, Российская Федерация

Генетический материал живой клетки непрерывно сталкивается с воздействием как экзогенных, так и эндогенных повреждающих факторов. Это приводит к появлению в ДНК модифицированных азотистых оснований, коррекцию которых в клетках осуществляет система эксцизионной репарации оснований (BER). Ключевыми белками-участниками BER являются гликозилазы, удаляющие из ДНК повреждённое азотистое основание с образованием апурин/апириμιдинового (АП) сайта, а также АП-эндонуклеазы, гидролизующие фосфодиэфирную связь с 5'-конца от АП сайта [Lindahl 1982].

Наше исследование посвящено репарации оснований в микроорганизме *Desulfobulbus oralis*, выделенного из полости рта болеющего пародонтитом человека [Cross et al. 2018]. В геноме этого патобионта кодируется двудоменный фермент NTH-MTH, обладающий гомологией как с бифункциональными гликозилазами семейства NTH, так и АП-эндонуклеазами. Нами рассматривались биохимические свойства как полноразмерного двухдоменного фермента NTH-MTH, так и обоих однодоменных вариантов этого белка. Выделив их в рекомбинантном виде, мы определили гликозилазную активность этих ферментов по отношению ДНК-субстратам, содержащим поврежденные или неканонические основания ohoG, U, hoU, dhU, I. Изучались как одноцепочечные, так и полный спектр двуцепочечных ДНК субстратов. Также исследовались субстраты, содержащие АП-сайт или его аналог TF по отношению к вероятной АП-лиазной активности упомянутых белков. Было показано, что полноразмерный двудоменный белок NTH-MTH и его однодоменный вариант NTH обладают выраженной гликозилазной активностью по отношению к двуцепочечным субстратам, содержащим hoU или dhU. Кроме того, двудоменный фермент NTH-MTH продемонстрировал выраженную АП-лиазную активность на двуцепочечных субстратах.

Исследование поддержано грантом Российского Научного Фонда (проект № 21-64-00017n).

Литература

- Cross, K. L., P. Chirania, W. Xiong, C. J. Beall, J. G. Elkins, R. J. Giannone, A. L. Griffen, et al. 2018. "Insights into the Evolution of Host Association through the Isolation and Characterization of a Novel Human Periodontal." *mBio* 13(9).
- Lindahl, Tomas. 1982. "Dna Repair Enzymes." : 61–87.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ШТАММА *DIETZIA NATRONOLIMNAEA* PS7, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ РАСТЕНИЙ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.) СОРТА МАРАТ

Л.Е. Макарова*, М.С. Карпова, И.В. Горбенко, Ю.М. Константинов, П.А. Бизиков, Ю.А. Маркова

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск, *e-mail: makarova@sifibr.irk.ru

Виды рода *Dietzia* (семейство *Dietziaceae*, подотряд *Corynebacterineae*, отряд актиномицетов) были первоначально выделены из различных сред. По имеющимся в литературе сведениям, их клетки грамположительные, аэробные, короткие палочковидные и кокковидные, неподвижные, не образующие эндоспор, не кислотоустойчивые, оксидазоположительные и каталазоположительные [Koerner et al., 2009]. В то же время у некоторых штаммов бактерий этого семейства отмечены отличительные от большинства их представителей свойства. В частности, это относится к проявлению активности оксидаз. Примером таких штаммов являются *Dietzia maris* и штамм, изолированный из водной среды Восточно - африканского щелочного озера, который авторы обозначили как штамм *Dietzia natrolimnaios* (тип штамма 15 LN1) [Duckworth et al., 1998]. Изолированный нами из корней

гороха сорта Марат штамм по результатам полногеномного секвенирования оказался близким к штамму *Dietzia natronolimnaea* JCM 11417 (рис. 1).

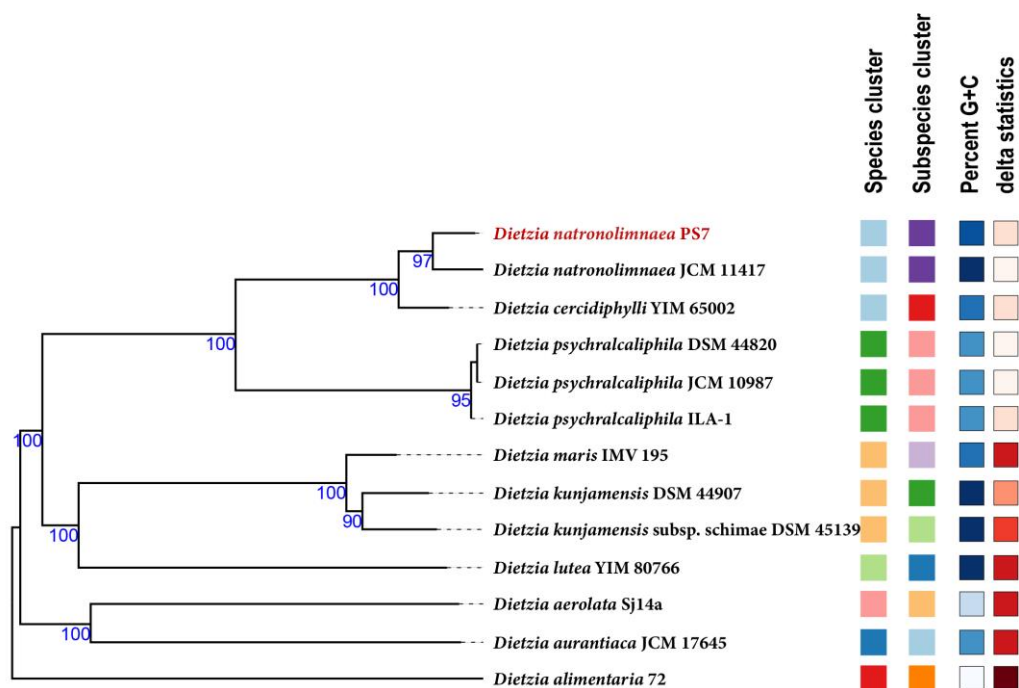


Рис. Сбалансированное дерево минимальной эволюции, полученное с использованием Fast ME 2.1.6.1. [Lefort et al., 2015] на значениях филогенетических полногеномных BLAST-расстояний (GBDP), укорененное по средней точке [Farris, 1972]. Получено с помощью Type (Strain) GenomeServer (<https://tygs.dsmz.de/>). В качестве статистической поддержки указаны псевдо-бутстреп значения (в % от 100 повторностей). Средняя поддержка 93.8%. Цветовые маркировки справа указывают на видовой кластер, подвидовой кластер, разность GC-состава (более темные значения соответствуют меньшей разности), дельта-статистике (светлые значения соответствуют более низкой дельта-статистике, что указывает на более аккуратную оценку филогении).

Dietzia. Клетки у исследуемого нами штамма - полиморфные палочки. Молодые клетки имеют кокковидную форму, переходящую в короткие палочки, образуют цепочки. Бактерии обсуждаемого штамма росли на агаризованных средах на основе горохового отвара с добавлением нафталина, на маннито-дрожжевой среде. Однако они не росли на среде Эшби, МПА.

На твердых средах появление колоний наблюдали в виде мелких красных точек на 6-7 сут от момента посева, размеры которых через 12-14 суток достигали 2-3 мм (максимальные размеры). Рост колоний происходил интенсивнее при внесении в среды нафталина. В жидкой среде с метанолом, применяемой при культивировании метиловых бактерий [Green, 2006] рост их также интенсифицировался (более, чем в 2.0 раза). Такие свойства, как медленный рост бактерий, окраска колоний и положительная реакция на метанол описаны и для бактерий рода *Methylobacterium* [Green, 2006]. В то же время и бактерии семейства *Dietzia* относятся к группе алканобактерий, способных использовать ациклические углеводороды в качестве трофического материала. [Gharibzadeh et al., 2013].

В числе физиологических показателей установлено наличие каталазной и оксидазной активностей, способность к синтезу ИУК, экзогенных целлюлазы, пектиназы, способность к деградации нафталиновых структур. Отрицательными оказались показатели амилазной активности, фосфатсольюбилизирующей активности, синтез сидерофоров.

Бактерии штамма PS7 не обнаруживали на поверхности проростков гороха сорта Марат, из которого он был изолирован. При этом колонии бактерий, схожие по морфологическим показателям с колониями бактерий, изолированных из корней проростков указанного сорта, выявляли в корневых клубеньках того же сорта. Проведенные нами поиски описываемого штамма у других сортов гороха позволили заключить, что изолированный штамм эндофитных бактерий, ассоциированный с растениями гороха сорта Марат, не принадлежит к числу распространенных штаммов, характерных для различных сортов данного вида растений.

Работа выполнялась в рамках Проекта НИР FWSS-2025-0002.

Литература

- Duckworth A.W., Grant S., Grant W.D., Jones B.E., Meijer D. *Dietzia natrolimneios* sp. Nov., a new member of the genus *Dietzia* isolated from an East African soda lake // *Extremophiles*. 1998. Vol. 2. P. 359-366.
- Farris J.S. Estimating phylogenetic trees from distance matrices // *AmNat*. 1972. Vol. 106. P. 645–667
- Gharibzahedi S.M.T., Razavi S.H., Mousavi S.M. Characterization of bacteria of the genus *Dietzia*: an updated review // *Ann Microbiol*. 2014. Vol. 64. P. 1–11. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0603-3>
- Green P.N. *Methylobacterium* // *Prokaryotes*. 2006. Vol. 5. P. 257-265. DOI: https://doi.org/10.1007/0-387-30745-1_14
- Koerner R.J., Goodfellow M., Jones A.L The genus *Dietzia*: a new home for some known and emerging opportunist pathogens // *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2009. Vol. 55. P. 296–305. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2008.00513.x
- Lefort V, Desper R, Gascuel O. FastME 2.0: A comprehensive, accurate, and fast distance-based phylogeny inference program // *Mol Biol Evol*. 2015. Vol. 32. P. 2798–2800. <https://doi.org/10.1093/molbev/msv150>

ВЛИЯНИЕ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ЗУБНЫХ ПАСТ НА МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО ПОЛОСТИ РТА

В.С. Макулова¹, Е.А. Трибе¹, И.А. Буторова¹, О.В. Романычева², И.А. Белова¹

¹ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», г.

Москва, makulova.v.s@muctr.ru

²АО «СВОБОДА», г. Москва, dental@svobodako.ru

Современные зубные пасты помимо очищающих свойств зачастую обладают антимикробным и противовоспалительным действием, что достигается за счет введения различных активных компонентов. Например, соединения цинка могут препятствовать адгезии микроорганизмов, способных образовывать биопленки, которые в дальнейшем приводят к образованию кариеса [Голованенко, 2023], экстракты различных растений (например, коры магнолии, корня солодки) обладают противовоспалительными свойствами [Улитовский, 2018; Винниченко, 2011], однако эти же вещества могут проявлять и антимикробное действие, что приводит к нарушению в составе и биоразнообразии микробного сообщества ротовой полости.

На основании ранее проведенных нами исследований [Макулова, 2024; Писарева, 2026] был выбран комплекс активных компонентов и разработан состав зубной пасты, препятствующей образованию биопленок. Данный комплекс включает в себя цитрат и сульфат цинка, экстракт коры магнолии и лизаты лакто- и бифидобактерий. Были изучены антимикробные свойства компонентов комплекса в отношении тест-штаммов *Streptococcus mutans* ATCC 25175 и *Candida albicans* ВКПМ-У-3108, а также естественной микрофлоры полости рта, полученной путем смывов из полости рта добровольцев. Результаты исследований показали, что сульфат цинка в концентрации, введенной в комплекс, подавляет рост *S. mutans*, а цитрат цинка – *C. albicans*. Комплекс активных компонентов уменьшает общее количество микроорганизмов, населяющих полость рта. Также была проведена оценка способности веществ, входящих в комплекс, уменьшать адгезию указанных выше тест-

микроорганизмов *in vitro* как по отдельности, так и в составе комплекса и зубной пасты. Во всех случаях наблюдалось значительное снижение адгезии микроорганизмов.

Поскольку в настоящее время большое внимание уделяется роли микробиома и биоразнообразия в здоровье полости рта, актуальным является вопрос о влиянии комплекса данных активных компонентов зубной пасты на микробное сообщество полости рта, что и стало целью данной работы.

Влияние комплекса на изменение соотношения видов оценивали на модельной смешанной культуре *in vitro*, в которую входили следующие тест-штаммы, взятые в соотношении (1:1:1:1:1): *S. mutans* ATCC 25175, *S. aureus* FDA 209P, *S. epidermidis* ВКПМ-B-12635, *C. stationis* ВКПМ-B-10645, *L. plantarum* B-11007, *C. albicans* ВКПМ-Y-3108. Культивирование смеси микроорганизмов проводили в жидкой модифицированной SHI-среде [Lamont, 2021] при 30°C в шейкере-инкубаторе (200 об/мин) в присутствии комплекса веществ (опытный образец) и без него (контрольный образец). Через 24 ч образцы рассевали по методу Коха на агаризованную среду того же состава, инкубировали при 30°C в течение 48 ч и далее выдерживали при температуре окружающей среды до полного формирования культуральных признаков колоний.

В результате проведенного эксперимента отмечалось перераспределение видов в опытном образце по сравнению с контрольным: наблюдалось снижение доли *S. mutans* и *C. albicans*, влияние на виды стафилококков, а также на *C. stationis* практически не наблюдалось, доля *L. plantarum* незначительно увеличилась. Данный эксперимент показал избирательное воздействие комплекса активных компонентов на микроорганизмы исследуемой модельной системы, что делает его перспективным для дальнейшего изучения, в том числе в условиях *in vivo*.

Литература

Винниченко Ю.А., Поповкина О.А., Сыч М.Ю., Купец Т.В. Изучение эффективности зубных паст на основе натуральных компонентов // Стоматологический журнал. 2011. №2. С. 169-172.

Голованенко А.Л., Березина Е.С., Алексеева И.В. Цинксодержащие лекарственные препараты как перспективные средства для профилактики и лечения кариеса // Медицинский альманах. 2023. №3 (76). С. 113-118.

Макулова В.С., Буторова И.А., Романычева О.В., Белова И.А. Влияние цитрата и лактата цинка на биопленкообразование тест-штамма *Streptococcus mutans* // Актуальная биотехнология. 2024. №1. С. 51-52.

Писарева Е.И., Макулова В.С. Исследование действия соединений цинка и растительных экстрактов на адгезию микроорганизмов полости рта, способных образовывать биопленки // Ломоносов-2026, Секция «3.13 Микробиология». М.: МАКС Пресс, 2026.

Улитовский С.Б., Тэц В.В., Антипова А.В., Доморад А.А., Яковлева О.М. Эффективность использования средств оральной гигиены при лечении воспалительных заболеваний пародонта // Стоматологический научно-образовательный журнал. 2018. №1/2. С. 2-7.

Lamont E.I., Gadkari A., Kerns K.A., To T.T., Daubert D., Kotsakis G., Bor B., He X., McLean J.S. Modified SHI medium supports growth of a disease-state subgingival polymicrobial community *in vitro* // Molecular Oral Microbiology. 2021. V. 36 (1). P. 37-49.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОРОТКИХ СЕКРЕТИРУЕМЫХ РНК НА КОМПОЗИЦИОННЫЙ СОСТАВ КИШЕЧНОГО МИКРОБИОМА.

Н.М. Маркелова¹, О.А. Глазунова¹, О.В. Аликина¹, Н.П. Кольжецов¹, К.С. Шавкунов¹, О.Н. Озолин¹

¹Институт биофизики клетки Российской академии наук – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Московская область, г. Пущино, ozoline@rambler.ru

Короткие РНК бактерий, образующиеся за счет вырезания из полноразмерных транскриптов, сегодня рассматриваются как перспективный инструмент для создания антимикробных препаратов. Подобные молекулы могут стать альтернативой антибиотикам в поиске новых путей терапии, что особенно актуально с учетом тревожного роста антибиотикорезистентности у бактерий. Механизм действия «антимикробных» РНК основан на комплементарном спаривании с ключевыми РНК патогенных штаммов, которое должно завершаться деградацией последних.

В наших предыдущих работах проведено сравнительное исследование спектра внутриклеточных РНК, а также РНК, секретируемых кишечной палочкой в условиях индивидуального роста и при совместном росте с бактериями других видов [Markelova et al., 2021]. Было обнаружено несколько коротких РНК, обладающих бактериостатическим действием, как на клетки собственной, так и на конкурирующие популяции [Shavkunov et al., 2023].

Одной из таких молекул с регуляторными свойствами является 5'-концевой 19-мерный фрагмент лейциновых тРНК кишечной палочки LeuT(V/P/Q), для которого установлено удлинение с 3'-конца за счет включения нематричных нуклеотидов. И среди всех обнаруженных олигорибонуклеотидов с нестандартными концами, именно у лейциновых тРНК наибольшее разнообразие последовательности 3'-концов.

Обретая способность связываться с широким спектром частично комплементарных мишеней, такие удлиненные фрагменты Leu-тРНК могут функционировать как универсальные молекулярные «губки» [Lalaouina et al., 2015]. Такой механизм может приводить как к «выключению» собственных РНК из метаболизма, так и к «хищническому» действию в отношении транскриптов в клетках других видов, через запуск событий аналогичных РНК-интерференции. Интересно, что такая 3'-концевая гетерогенность отсутствовала у фрагментов тРНК гомологичных генов leuU/W/X/Z.

Было установлено, что синтетические аналоги 22-, 25- и 28-меров LeuTVPQ тРНК, соответствующие геномной последовательности или содержащие на 3'-концах тримеры, гексамеры, или 9-меры произвольного нуклеотидного состава могут влиять как на рост культуры кишечной палочки, так и на состав искусственного микробного сообщества, восстановленного из фекалий лабораторных крыс Wistar [Kamoldinov et al., 2025].

Одной из особенностей фрагментов LeuTVPQ является наличие в их D-петле уникальной пост-транскрипционной модификации DD#GD, где D это 5',6',-дигидроуридин, а # - 2'-О-метилгуанозин. Мы получили синтетический аналог, содержащий только замену гуанозина на 2'-О-метилгуанозин, а также аналог с полноценной природной модификацией. Помимо этого, были получены олигонуклеотиды с разной степенью стабильности G-квадруплекса (Таблица 1), присутствующего в Leu-тРНК.

Название	Последовательности олигонуклеотидов
Bio_26_LeuT	5'-Bio-GCGAAGGUGGCGGAAUUGGUAGACGC-3'
Bio_26_LeuT#	5'-Bio-GCGAAGGUGGCGGAAUU#GUAGACGC-3'
LeuT_33_Bio	5'-GCGAAGGUGGCGGAAUUGGUAGACGCGCUAGCU-Bio-3'
LeuT_33_DD#_Bio	5'-Bio-GCGAAGGUGGCGGAADD#GDAGACGCGCUAGCU-3'
LeuT_33_GG_Bio	5'-GGGAAAGGGCCGGGAUUGGGAGACGCGCUAGCU-Bio-3'

Таблица 1. Синтетические олигонуклеотиды, использованные для функционального анализа. Навеска биотина была использована для проведения экспериментов pull-down.

Проверка ингибиторного эффекта Bio_26#_LeuT# и LeuT_33_GG_Bio на «искусственном микробиоме» подтвердила низкую зависимость таксонов от присутствия LeuT33 (левая панель на рисунке 1), большое число сильно ингибируемых таксонов в присутствии олигонуклеотида с G-квадруплексом (средняя панель рисунка 1) и умеренное, но сопоставимое с LeuT_33_GG_Bio влияние олигонуклеотида с 2'-О-метилгуанозином в D-петле (правая панель на рисунке 1).

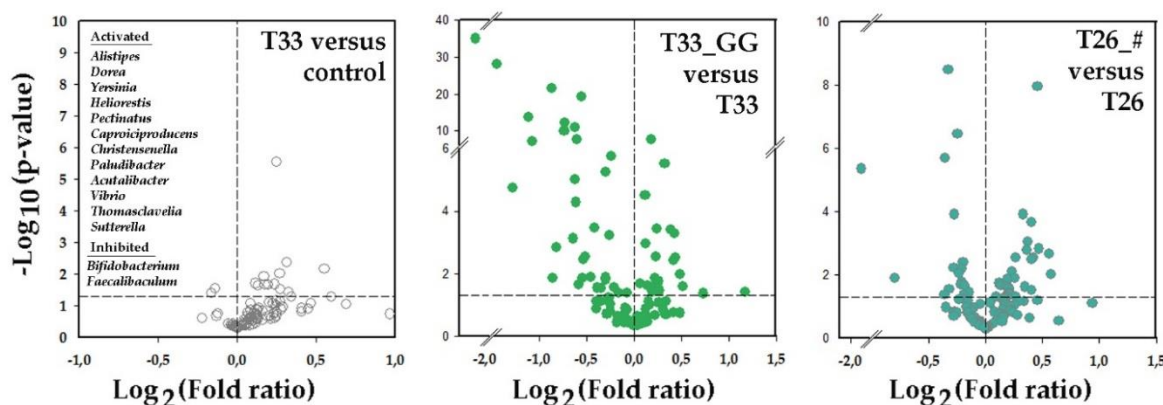


Рисунок 1. Диаграммы, отражающие реакцию бактериального сообщества в искусственном микробиоме на введение разных олигонуклеотидов (указаны)

Все 5 олигонуклеотидов, приведённые в Таблице 1, были использованы для эксперимента pull-down с целью оценки спектра белковых партнёров фрагмента тРНК-LeuTVRQ в зависимости от стабильности G-квадруплекса, формируемого на его 5'-конце и присутствия пост-транскрипционных модификаций в D-петле.

Всего идентифицировано 924 белка. В комплексе с Bio_26_LeuT было обнаружено только 63 белка и 17 из них являются рибосомными, которые имеют естественное сродство к РНК. В комплексе с Bio_26_LeuT#, содержащим природную модификацию – 2'-О-метилгуанозин, оказалось 313 белков, в том числе, 17 тРНК-лигаз. Ни одной из них не было среди 63 белков, связавшихся с Bio_26_LeuT. В комплексе с LeuT_33_Bio, который на 7 нуклеотидов длиннее и достигает антикодонную петлю, обнаружено 349 белков и среди них также выявлены тРНК-лигазы.

Распространенность описанного нового типа регуляторов, происходящих из тРНК, их важность для бактерий, а также роль тРНК-лигаз в биогенезе будут исследованы в дальнейшем.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках гранта № 24-14-00433.

Литература

Kamoldinov NM, Panyukov VV, Kolzhetsov NP, Markelova NY, Shavkunov KS, Shvyreva US, Alikina OV, Glazunova OA, Praslova IA, Ozoline ON. Posttranscriptional 3'-Terminal Modifications of *Escherichia coli* RNA Fragments Evolved for Diversity Boosting // *Microorganisms*. 2025. Vol. 13(9). 2189.

Lalaouna D, Carrier MC, Semsey S, Brouard JS, Wang J, Wade JT, Massé E. A 3' external transcribed spacer in a tRNA transcript acts as a sponge for small RNAs to prevent transcriptional noise // *Mol Cell*. 2015. Vol. 58(3). P. 393-405.

Markelova, N., Glazunova, O., Alikina, O., Panyukov, V., Shavkunov, K., & Ozoline, O. Suppression of *Escherichia coli* Growth Dynamics via RNAs Secreted by Competing Bacteria // *Frontiers in molecular biosciences*. 2021. Vol. 8. 609979.

Shavkunov KS, Markelova NY, Glazunova OA, Kolzhetsov NP, Panyukov VV, Ozoline ON. The Fate and Functionality of Alien tRNA Fragments in Culturing Medium and Cells of *Escherichia coli* // *Int J Mol Sci*. 2023. Vol. 24(16). 12960.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ LACTOBACILLUS В ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОМ ТРАКТЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

П.А. Мартынюк, Ю.В. Батаева

Лактобактерии играют важную роль в пищеварении сельскохозяйственных животных, участвуя в ферментации кормов и поддержании здоровья кишечника. Для крупного рогатого скота (КРС), рацион которого состоит преимущественно из растительной клетчатки, значение этих микроорганизмов особенно велико. В работе рассмотрены два вида: *Lactobacillus ruminis* (постоянный обитатель кишечника жвачных) и *Lactiplantibacillus plantarum* (универсальный пробиотический вид).

Бактерии вида *Lb. ruminis* являются облигатными анаэробами, впервые выделенными из рубца коровы. Вид является автохтонным, так как практически не встречается во внешней среде [Kant, 2017]. *Lb. plantarum* — экологически пластичный вид, обитающий как на поверхности растений, так и в ферментированных продуктах, а также в кишечнике животных и человека [Yang, 2022].

Пан-геном *Lb. ruminis* насчитывает 4301 ген, из которых геном (core genome) составляют 1234 гена (28,7%). Значение $\alpha = 0,63$ указывает на открытый тип пан-генома, что свидетельствует о высокой геномной пластичности и горизонтальном переносе генов. Размер генома штаммов, выделенных из желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота - 2,04–2,07 млн. п.о., G+C - 43,4–43,5% [Kant, 2017]. У *Lb. plantarum* хромосома состоит из 3 058 984 п.о., G+C - 44,76%. Наибольшее количество генов (204) отнесено к категории «Транспорт и метаболизм углеводов», в связи с чем можно подчеркнуть метаболическую гибкость вида [Yang, 2022].

При рассмотрении процессов углеводного обмена важно отметить, что у штаммов *Lb. ruminis* КРС отсутствуют гены β -галактозидазы (GH2, GH42) и опероны для утилизации фрукто- и галактолигосахаридов (FOS/GOS), что проявляется в неспособности ферментировать эти субстраты. В то же время, в геноме *Lb. ruminis* присутствуют опероны, отвечающие за метаболизм целлобиозы и раффинозы - характерных для растительных кормов углеводов. Большинство штаммов *Lb. ruminis* не усваивают рибозу из-за отсутствия генов, кодирующих ее транспортера (RbsU) [O'Donnell, 2011]. В отличие от *Lb. ruminis*, *Lb. plantarum* характеризуется универсальностью углеводного метаболизма, что подтверждается присутствием 204 генов.

Говоря о подвижности исследуемых видов лактобактерий, необходимо отметить, что штаммы *Lb. ruminis* (ATCC 27780, 27781, 27782), выделенные из желудочно-кишечного тракта КРС, подвижны и экспрессируют перитрихальные жгутики. Локус подвижности включает 48 062 п.н. и 45 генов (39 структурных, 16 хемотаксисных). В геноме *Lb. ruminis* присутствуют две копии гена *fliC*, но экспрессируется преимущественно *fliC2* [Neville, 2012]), в то время как *Lb. plantarum* подвижностью не обладает. Адгезию у *Lb. ruminis* обеспечивают пили *LrpCBA*, кодируемые опероном *lrpCBA*. Данный оперон включает в себя три гена-пилина: *lrpA*, *lrpB*, *lrpC*. Также присутствует ген фибронектин-связывающего белка (Fbp) [Kant, 2017]. Интересно, что у штамма ATCC 27782, выделенного из желудочно-кишечного тракта КРС, ген *lrpB* является псевдогеном. Причиной служит вставка двух аденинов в кодирующую последовательность, что приводит к сдвигу рамки считывания и усечению белка (потеря около 40 аминокислот на N-конце, включая сигнальный пептид). Однако примечательно, что у других штаммов КРС и у штаммов, выделенных из микробиома человека, ген *lrpB* функционален. Но у штамма DPC 6832, выделенного из желудочно-кишечного тракта лошади, также обнаружены нарушения (делеция цитозина). Авторы не исключают, что псевдогенизация может быть как результатом естественной мутации, так и артефактом секвенирования [Kant, 2017]. У *Lb. plantarum* присутствует 139 генов биосинтеза клеточной стенки, обеспечивающих формирование биоплёнок [Yang, 2022].

Анализируя стресс-резистентность рассматриваемых видов лактобактерий, можно отметить, что у *Lb. ruminis* отсутствуют гены *SOD* и каталазы, что характерно для

облигатного анаэроба. В то же время присутствуют гены тиоредоксинов, NADH-оксидаз и универсального стрессового белка *UspA*, предположительно участвующие в детоксикации активных форм кислорода. Также выявлены гены *bsh* (устойчивость к желчи) и кластер педиоцин-подобного бактериоцина класса IIa [Neville, 2012]. У *Lb. plantarum* GX17 идентифицировано 50 генов стресс-резистентности (*cspL*, *hsp*, *nhaC*, *bsh*, *uspA*). Фенотипически штамм устойчив к pH 2,5–3,5, содержанию NaCl 150 г/л, желчи 0,3%, температуре 80°C [Yin, 2025]. Оба вида лактобактерий обладают иммуномоделирующими свойствами. У *Lb. ruminis* флагеллины индуцируют секрецию IL-8 через TLR5-зависимый путь, что было подтверждено с помощью использования малых интерферирующих РНК (siRNA) [Neville, 2012]. У *Lb. plantarum* подавляется экспрессия провоспалительных цитокинов (IL1 β , IL6, IL8, TNF α , COX2, iNOS) и ингибируется фосфорилирование ключевых белков p65, I κ B α , p38, ERK, JNK (пути NF- κ B и MAPK) [Li, 2022].

Таким образом, адаптация *Lb. ruminis* к желудочно-кишечному тракту крупного рогатого скота обеспечивается: специализацией углеводного обмена к растительному рациону, флагеллярной подвижностью, пилиями LrpCBA, генами *bsh*, *uspA* и бактериоцинами, а также TLR5-зависимой иммуномодуляцией, в то время как *Lb. plantarum* адаптируется за счёт широкого углеводного метаболизма, биоплёнкообразования, высокой стресс-резистентности и подавления NF- κ B/MAPK сигнальных путей. Полученные данные могут быть использованы для разработки эффективных пробиотических препаратов для крупного рогатого скота.

Литература

Kant R., Palva A., von Ossowski I. An in silico pan-genomic probe for the molecular traits behind *Lactobacillus ruminis* gut autochthony // PLoS ONE. 2017. Vol. 12, No. 4.

Li K., Yang M., Tian M., Jia L., Du J., Wu Y., Li L., Yuan L., Ma Y. *Lactobacillus plantarum* 17-5 attenuates *Escherichia coli*-induced inflammatory responses via inhibiting the activation of the NF- κ B and MAPK signalling pathways in bovine mammary epithelial cells // BMC Veterinary Research. 2022. Vol. 18. 250.

Neville B.A., Forde B.M., Claesson M.J., Darby T., Coghlan A., Nally K., Ross R.P., O'Toole P.W. Characterization of pro-inflammatory flagellin proteins produced by *Lactobacillus ruminis* and related motile lactobacilli // PLoS ONE. 2012. Vol. 7, No. 7.

O'Donnell M.M., Forde B.M., Neville B., Ross P.R., O'Toole P.W. Carbohydrate catabolic flexibility in the mammalian intestinal commensal *Lactobacillus ruminis* revealed by fermentation studies aligned to genome annotations // Microbial Cell Factories. 2011. Vol. 10, Suppl. 1. S12

Yin Y., Li C., Pei Z., Li C., Chen Z., Bai H., Ma C., Lan M., Li J., Gong Y., Liu J., Teng L., Wang L., Qin Z., Zhang E., Peng H. Genomic and stress resistance characterization of *Lactiplantibacillus plantarum* GX17, a potential probiotic for animal feed applications // Microbiology Spectrum. 2025. Vol. 13, No. 10.

Yang S., Deng C., Li Y., Li W., Wu Q., Sun Z., Cao Z., Lin Q. Complete genome sequence of *Lactiplantibacillus plantarum* ST, a potential probiotic strain with antibacterial properties // Journal of Animal Science and Technology. 2022. Vol. 64, No. 1. P. 183–186.

METABOLOMIC ALTERATIONS OF VERTICILLIUM ALFALFAE DURING INTERACTIONS WITH PLANT HOST METABOLITES

A.R. Meshcherov¹, A.I. Vishnevskaya², N.V. Malyshev³, Y.I. Kostyukevich⁴, L. Gentzbittel⁵, C. Ben⁶

¹Center for Molecular and Cellular Biology, Bolshoy Boulevard 30, Building 1, Moscow 121205, Russia, Azat.Meshcherov@skoltech.ru

²Center for Molecular and Cellular Biology, Bolshoy Boulevard 30, Building 1, Moscow 121205, Russia, Anna.Vishnevskaya@skoltech.ru

³Center for Neurobiology and Brain Restoration, Bolshoy Boulevard 30, Building 1, Moscow 121205, Russia, N.Malyshev@skoltech.ru

⁴Center for Molecular and Cellular Biology, Bolshoy Boulevard 30, Building 1, Moscow 121205, Russia, Y.Kostyukevich@skoltech.ru

⁵AgroToulouse, INN-ENSAT, Toulouse, France, laurent.gentzbittel@toulouse-inp.fr

⁶Centre de Recherche sur la Biodiversité et l'Environnement (CRBE), Université de Toulouse, CNRS, IRD, Toulouse INP, Université Toulouse 3 - Paul Sabatier (UT3), Toulouse, France, cecile.ben@toulouse-inp.fr

Verticillium wilt is a destructive soil-borne disease affecting diverse crops, from vegetables to trees, causing severe yield losses and reducing the quality of agricultural products. The disease is caused by various *Verticillium* fungal species, which differ in host specificity and environmental adaptability. Among these, *V. alfalfae* is a key pathogen of the major forage crop alfalfa (*Medicago sativa*) and its wild relative *Medicago truncatula*. Despite the economic importance of Verticillium wilt caused by *V. alfalfae*, there is a lack of understanding of the pathogenesis processes occurring during the interaction between pathogen and host plant, including characterization of virulence factors such as enzymes and low-molecular-weight metabolites utilized by the fungus to invade and colonize host plant tissues. To investigate this phenomenon, we developed an *in vitro* system that mimics that mimics the recognition of and response to host plant metabolites by fungal cells.

To account for strain- and plant genotype-specific interactions, we conducted the experiment on two fungal strains, V31.2 (wild-type) and AS38 (elevated-temperature adapted), and two *M. truncatula* plant accessions differing in resistance level to Verticillium wilt, A17 (resistant) and F83005.5 (tolerant) [Sbeiti et al., 2023]. Fungal strains were pre-grown for 10 days in liquid synthetic medium containing only salts and sucrose as a carbon source, and then supplemented with aqueous root extracts collected from plants and water as control. Before supplementation and after 12, 24, 48, and 96 hours of incubation, samples of culture liquid containing excreted fungal metabolites were collected for further colorimetric extracellular enzymatic activity assays, including lipase, protease, amylase, cellulase, polygalacturonase, and xylanase, modeling the potential decomposition of plant cell components such as membranes, proteins, storage sugars, and plant cell wall carbohydrates. By the end of the incubation period (when most enzymatic activities reached their highest amplitude), fungal mycelia were harvested, rinsed with buffer to wash out medium leftovers, and fungal metabolites were extracted with 50% methanol. For metabolomics profiling samples were separated with C18 HPLC columns and injected into orbitrap MS/MS system. In general, 1459 features corresponding to potential compounds were taken into further analysis; within this list, 118 features were identified as (Differentially Accumulated Metabolites) DAMs between strains and 30 DAMs between supplement types.

Using this approach, we characterized metabolome alterations in the fungal pathogen *V. alfalfae* at both the enzymatic (extracellular activity assays) and metabolomic (HPLC-MS/MS) levels. The wild-type strain V31.2 exhibited higher activities across a diverse set of extracellular enzymes, whereas the response of the mutant strain As38 was less pronounced. Consistent with these differences, metabolomic profiles varied substantially between the two strains. The wild-type strain accumulated higher levels of lipids than the mutant strain; increased fungal lipid alteration is often associated with higher fungal virulence [Rella et al., 2016; Lin & Peng, 2025]. Interestingly, exposure to root extracts from the tolerant *M. truncatula* accession promoted the accumulation of N-methyl pipecolic acid in both strains, highlighting a potential connection between host-derived metabolites and pathways associated with systemic acquired resistance (SAR) [Chen et al., 2018].

To the best of our knowledge, this is the first study utilizing such a complex *in vitro* investigation that mimics the natural processes of *Verticillium* pathogen–plant interaction and its metabolome background. These findings provide new insights into the metabolic responses of *V. alfalfae* to host-derived signals and contribute to a deeper understanding of the molecular mechanisms underlying fungal pathogenicity and host–pathogen interactions.

References

Chen Y.C., et al. N-hydroxy-pipecolic acid is a mobile metabolite that induces systemic disease resistance in Arabidopsis // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2018. Vol. 115. No. 21. P. E4920-E4929.

Lin H., Peng Y. Fatty acids in filamentous pathogenic fungi: Multidimensional regulation and pathogenic mechanisms // Virulence. 2025. Vol. 16. No. 1. P. 2561826.

Rella A., Farnoud A.M., Del Poeta M. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence // Progress in Lipid Research. 2016. Vol. 61. P. 63-72.

Sbeiti A.A.L., et al. Temperature increase modifies susceptibility to Verticillium wilt in Medicago spp and may contribute to the emergence of more aggressive pathogenic strains // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. P. 1109154.

СКРИНИНГ ШТАММОВ РИЗОБИЙ — СИМБИОНТОВ *GLYCINE MAX* И *G. SOJA* ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВКСМ НА СПОСОБНОСТЬ ФОРМИРОВАТЬ ЭФФЕКТИВНЫЕ КЛУБЕНЬКИ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ.

Перцев В.С., Киричек Е.А., Цыганов В.Е.

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, v.pertsev@arriam.ru

Соя культурная (*Glycine max*) является важнейшей бобовой культурой в мире, в том числе и в Российской Федерации [Синеговский, 2024]. По данным Росстата, в 2025 году общая посевная площадь сои в России составила 4,7 млн гектаров, что превышает посевную площадь других бобовых культур. Родственный вид сои культурной — соя уссурийская (*G. soja*) — рассматривается как предковый вид и является перспективным объектом для выявления генов, ассоциированных с хозяйственно полезными свойствами [Kim et al., 2010]. Способность бобовых растений обогащать почву фиксированным азотом делает их ключевыми видами для природных и сельскохозяйственных экосистем. Тем не менее, в современном сельском хозяйстве большая часть азота в почве обеспечивается химическими удобрениями. Производство азотных удобрений является дорогостоящим процессом. Более того, вымываясь с полей, они создают значительные экологические риски [Sutton et al., 2011]. В связи с отсутствием во многих регионах, где возделывается соя местных популяций ризобий, способных формировать симбиотические клубеньки, использование препаратов клубеньковых бактерий вносит существенный вклад в повышение урожайности данной культуры при сокращении применения минеральных азотных удобрений [Sytmolot et al., 2023].

В данной работе был проведен скрининг 22 штаммов ризобий — симбионтов *G. max* и *G. soja* из коллекции ВКСМ, и определена их способность индуцировать клубеньки, а также эффективность формируемых клубеньков. Проанализированы параметры клубенькообразования и сухая масса побегов у растений *G. soja* формообразца К-11570 и *G. max* формообразца К-5892 Fiskeby V, инокулированных данными штаммами. Были выявлены 3 штамма (3301, 3302 и 00575), неспособные формировать клубеньки, тогда как остальные штаммы вступали в симбиоз с соей с образованием детерминированных клубеньков. При инокуляции штаммами 00397, 24116 и 24111 растения *G. max* формировали наибольшую биомассу побегов. Для данных штаммов было проведено полногеномное секвенирование. Первичная таксономическая идентификация показала, что все 3 штамма относятся к виду *Bradyrhizobium japonicum*. Данные штаммы использовались при инокуляции *G. soja* и *G. max*, выращенных в условия пониженной температуры (21°C). Была проведена оценка параметров клубенькообразования и сухой массы побегов растений, выращенных при пониженной температуре.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2025-472 от «29» мая 2025 г. о предоставлении гранта в форме субсидии из федерального бюджета на реализацию проекта: «Расширение фонда и развитие геномных исследований в коллекции микроорганизмов Сетевая биоресурсная коллекция в области генетических технологий для сельского хозяйства (ВКСМ)».

Литература

Синеговский М. О. Возделывание сои в России в современных условиях // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2024. № 5. С. 11-16.

Kim, M. Y., Lee, S., Van, K., Kim, T. H., Jeong, S. C., Choi, I. Y., et al. Whole-genome sequencing and intensive analysis of the undomesticated soybean (*Glycine soja* Sieb. and Zucc.) genome // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2010. V. 107. No. 51. P. 22032-22037.

Sutton M.A., Oenema O., Erisman J.W., Leip A., van Grinsven H., Winiwarter W. Too much of a good thing // Nature. 2011. V. 472. P. 159-161.

Syrmolot O., Telichko O.G., Belova T.Y., Lastushkina E. Results of an experiment on the use of bioproducts for soybean cultivation under the conditions of Primorsky kray // In *BIO Web of Conferences*. 2023. V. 71. P. 01059. EDP Sciences.

АДАПТАЦИЯ МИКРОБИОМА РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ К ТЕМПЕРАТУРНОМУ СТРЕССУ: ОТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ СДВИГОВ ДО ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ СООБЩЕСТВА

Н.А. Сидорова, А.И. Савушкин

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, vanlis@petrsu.ru

Климатические аномалии, связанные с потеплением, остаются наиболее распространенной экологической проблемой в холодноводной аквакультуре, где одним из ключевых объектов разведения является радужная форель (*Oncorhynchus mykiss* W.). К настоящему времени установлено, что тепловой стресс у радужной форели индуцирует иммуносупрессию и дисбиоз кишечника, характеризующийся снижением альфа-разнообразия, элиминацией молочнокислых бактерий (*Lactobacillus*, *Lactococcus*), продуцентов короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) и доминированием условно-патогенных представителей микрофлоры [Zhou et al., 2022; Zhou, Ding, 2025]. Однако, несмотря на довольно широкое освещение проблемы таксономической перестройки микробиоты высокопродуктивных пород рыб при гипертермии, молекулярно-генетические механизмы ее адаптации к повышению температуры окружающей среды и кросс-ток с хозяином изучены фрагментарно.

Цель представленной работы заключалась в выявлении молекулярных и экологических механизмов адаптации кишечного микробиома молоди *O. mykiss* к острому температурному стрессу. Исследование проведено в июле–августе 2025 г на особях, содержащихся в садках при температуре 23 ± 2 °C (физиологический оптимум 14–18 °C). Пробы дистального отдела кишечника, рандомно отобранных 30 особей, подвергали мультиомиксному анализу, который включал полногеномное секвенирование (Illumina shotgun), ампликонное секвенирование полноразмерного гена 16S рРНК (PacBio) и транскриптомику хозяина (RNA-Seq). Таксономическую и функциональную аннотацию выполняли с использованием алгоритма LCA в MEGAN6 [Huson et al., 2016] с порогом фильтрации $>0.01\%$. Исследование выполнено на базе ООО «Микробиом» инновационного сектора Петрозаводского госуниверситета с привлечением ресурсов ООО «АльгаВита Про».

Установлено, что температурный стресс вызывает критическую перестройку доменной структуры микробиома кишечника. Относительная доля бактерий снижалась до 74%, тогда как пул эукариот (11.35%) и вирусов (11.62%), включая контаминацию ДНК хозяина, резко возрастал. Доминировали *Proteobacteria* и *Firmicutes*, в частности

представители классов *Gammaproteobacteria* и порядка *Enterobacterales*. Факультативные анаэробы (представители родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*), которые обладают высокой метаболической пластичностью, получили селективное преимущество в условиях гипоксии и иммуносупрессии хозяина, усугубляемой незрелостью желудочно-кишечного тракта молоди радужной форели. Мультиомиксный анализ выявил многоуровневую систему молекулярной адаптации. В условиях гипоксии, индуцированной температурным стрессом, отмечена активация центральных метаболических путей: гликолиза (map00010), метаболизма пирувата (map00620) и бутиратного метаболизма (map00650), что свидетельствует о переключении микробиоты на факультативно-анаэробный тип энергетического обмена. Одновременно выявлено обогащение путей биосинтеза липополисахаридов (map00540) и двухкомпонентных сигнальных систем (map02020), отражающих структурную адаптацию микрофлоры кишечника к стрессовым условиям и активацию регуляторных каскадов. Окислительный стресс, индуцированный гипоксией-реоксигенацией, нивелировался экспрессией ферментов детоксикации АФК: супероксиддисмутаза (*sodA/B/C*), каталаза (*katG/E*), алкилгидропероксид-редуктаза (*ahpCF*) и глутатион-тиоредоксиновых систем (*gor*, *grx*, *trx*).

Структурная и популяционная резистентность связана с идентифицированными механизмами ремоделирования липидного бислоя и липополисахаридов (ЛПС) для снижения иммуногенности, механизмами активации систем кворум-сенсинга и биопленкообразования, переключения на утилизацию эндогенных муцинов хозяина. В условиях активного фагового давления в образцах кишечного микробиома *O. mykiss* (до 11.62% вирусных ридов) выявлен функциональный потенциал многоуровневой системы антифагового иммунитета, представленный комплексом CRISPR-Cas (KEGG map03430). В его составе обнаружены гены *cas1/cas2* – ответственные за адаптивный модуль через интеграцию фаговых спейсеров в CRISPR-локус, *cas6* – за процессинг pre-crRNA и эффекторные комплексы *cas9* (Type II), *cas3* (Type I) и *cas10* (Type III) – ответственные за деградацию инвазивной нуклеиновой кислоты. Врождённый иммунитет включал системы рестрикции-модификации (Type I: *hsdR/M/S*, обеспечивающие метилирование аутологичной ДНК и рестрикцию немодифицированной фаговой ДНК; *mrr* – защиту от экзогенной метилированной ДНК) и системы abortивного инфицирования (*Abi*), лимитирующие распространение фага в популяции через альтруистическую гибель инфицированной клетки: токсин-антитоксिनный модуль *toxIN* и ингибитор цитокиназа *cbtA*. Интеграция профагов в бактериальную хромосому, опосредованная интегразой/эксциазой (*int/xis*) и регулируемая репрессорным каскадом (*cI/cro*), обеспечивала не только латентное сосуществование, но и приобретение симбионтами новых фенотипических признаков через лизогенную конверсию. Присутствие в профагах генов вирулентности и детерминант антибиотикорезистентности свидетельствует о том, что лизогенная конверсия может выступать механизмом быстрой адаптации микробиома кишечника форели к стрессовым условиям среды, одновременно формируя резервуар горизонтально передаваемых факторов вирулентности. Транскриптомный анализ (RNA-Seq) подтвердил активный микробно-хозяинный кросс-ток, выражающийся в сверхэкспрессии генов хозяина, ассоциированных с окислительным стрессом и модуляцией барьерной функции.

На основании выявленных молекулярных и экологических механизмов можно сделать вывод, что адаптация кишечного микробиома *O. mykiss* к температурному стрессу реализуется через редукцию таксономического разнообразия, элиминацию мутуалистов и экспансию метаболически пластичных оппортунистов. Выживаемость сообщества микроорганизмов в экстремальных условиях обеспечивается перестройкой центрального метаболизма, антиоксидантной защитой, структурным ремоделированием клетки, формированием биопленок и антифаговым иммунитетом. Выявленные паттерны коадаптации микробиоты и хозяина формируют молекулярную основу для разработки

таргетных микробиом-ориентированных стратегий повышения термотолерантности лососевых в условиях климатических аномалий.

Литература

Huson D. H., Beier S., Flade I., Górski A., El-Hadidi M., Mitra S. et al. MEGAN community edition-interactive exploration and analysis of large-scale microbiome sequencing data // PLoS Computational Biology. 2016. № 12 (6). e1004957.

Zhou C., Gao P., Wang J. Comprehensive analysis of microbiome, metabolome, and transcriptome revealed the mechanisms of intestinal injury in rainbow trout under heat stress // International Journal of Molecular Sciences, 2023. № 24(10). 8569.

Zhou C., Yang S., Ka W., Gao P., Li Y., Long R., Wang J. Association of gut microbiota with metabolism in rainbow trout under acute heat stress // Frontiers in Microbiology. 2022. № 13. 846336.

Zhou C., Ding F. Analysis of the alterations in symbiotic microbiota and their correlation with intestinal metabolites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under heat stress conditions // Animals. № 15 (14). 2025. P. 1-20.

АНАЛИЗ ГЕНОМА *PSEUDOXANTHOMONAS KAHSIUNGENSIS*: ПОИСК РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ ПРИРОДНЫМИ И КЛИНИЧЕСКИМИ ШТАММАМИ

Н.Е. Смурова¹, Н.Л. Белькова¹, Р.Е. Зугеева¹, Е.С. Клименко¹, У.М. Немченко¹, Е.В. Григорова¹

¹ - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru

Внедрение высокопроизводительного секвенирования в клиническую бактериологию значительно расширило понимание разнообразия условно-патогенных бактерий, выявив многочисленные редкие и ранее неизвестные виды как патогены человека. Описывают случаи, когда природные виды, основным местом обитания которых являются почва и вода, при контакте с животными или человеком реализуют свой патогенетический потенциал [Yinsai, 2019]. Впервые инфекция, вызванная штаммом вида *Pseudoxanthomonas kaohsiungensis*, была описана у сотрудника нефтеперерабатывающего завода Тайваня в 2018 году [Kuo, 2018]. Целью исследования стал сравнительный анализ генома клинического штамма *P. kaohsiungensis* IMB-1 с природными штаммами данного вида.

Материалы и методы. Объектом исследования стал штамм IMB-1 из рабочей коллекции лаборатории микробиома и микрoэкологии НЦ ПЗСРЧ г. Иркутск. Штамм был получен из бактериологической лаборатории Городской Ивано-Матренинской детской клинической больницы как изолят из спинномозговой жидкости ребенка. Геномную ДНК выделяли из 24-часовой культуры с использованием коммерческого набора «ДНК-сорб-В» (AmpliSens®, Россия). Полногеномное секвенирование проводили на платформе MGI G400 (MGI, Китай). Биоинформационную обработку данных и сборку генома проводили на онлайн платформе Galaxy (<https://galaxyproject.org>). Видовую идентификацию проводили на основании средней нуклеотидной идентичности (англ., average nucleotide identity, ANI) с использованием сервиса JSpeciesWS. Функциональная аннотация была выполнена с использованием Prokka v.1.14.6 и BlastKOALA v.3.1. Поиск генов, ассоциированных с устойчивостью к антибиотикам, проводился с использованием баз данных CARD v.4.0.1 и ResFinder v.4.7. Гены вирулентности определяли с помощью базы данных VFDB v.6.0.

Результаты. На основании сравнения геномов штамм IMB-1 был идентифицирован как *P. kaohsiungensis* со значением ANI 95,9% в сравнении с референсным геномом типового штамма *P. kaohsiungensis* DSM 17583^T. Поскольку штамм IMB-1 является клиническим, важно было оценить наличие генов антибиотикорезистентности и вирулентности. В геноме штамма IMB-1 обнаружены гены, кодирующие устойчивость к антибиотикам фосфоновой кислоты (*fosI*), к β-лактамам (*blaI*),

четвертичным аммонийным соединениям (*qacL* и *qacA*) и гены эффлюкс систем (*mdtA*, *mdtB*, *mdtE*, *acrF* и *swrC*). Кроме того, были идентифицированы регуляторные гены (*phoP*), которые способствуют реакции на стресс и устойчивость к противомикробным препаратам. Геном IMB-1 также содержит гены (*cusS*, *cusR* и *cueR*), связанные с устойчивостью к токсичным соединениям и металлам, что указывает на потенциальную адаптацию к условиям окружающей среды. По результатам поиска в базе данных VFDB геном штамма IMB-1 содержал гены вирулентности следующих классов: адгезия (VFC0001), подвижность (VFC0204), выживаемость при стрессе (VFC0282), биопленка (VFC0271) и эффекторная система доставки (VFC0086). Наличие генов вирулентности представленных групп указывает на способность штамма образовывать биопленки, прикрепляться к поверхности эпителия и проявлять устойчивость к стрессовым факторам, таким как антибиотики.

Для пангеномного анализа были взяты все геномы штаммов вида *P. kaohsiungensis*, депонированные в базе GenBank, которые относятся к природным изолятам: геномы двух эталонных штаммов – CCUG 55854 и DSM 17583 и геном, собранный из метагенома – SH_SHASGE1bin.36. В целом, структура пангенома характеризуется большим консервативным ядром (2314 генов) и разнообразным дополнительным геномом, при этом клинический штамм IMB-1 демонстрирует наибольшую долю уникальных генов (578 генов) (рис. 1). Среди уникальных генов штамма IMB-1 можно выделить ген секреции колицина V – *cvaA*, гены устойчивости к четвертичным аммонийным соединениям (*qacA*), полимиксином (*eptA*), ген биосинтеза цефалоспоринов (*cefD*) и гены, обеспечивающие устойчивость к тяжелым металлам (*nrA*, *cnrB*, *arsR1*, *cadA*, *cusR*, *cusS*). Также уникальными для клинического штамма стали гены, участвующие в образовании биопленки (*bdbD*, *bdcA*), сборки жгутикового аппарата (*pilE*, *pilE1*) и генов вирулентности системы секреции IV типа (*virB4*, *virB5*, *virB6*). Дополнительно были обнаружены гены транспозаз семейств IS3, IS5, ISL3, Tn3, IS110, отсутствовавших у природных штаммов. Напротив, три генома природных штаммов отличались от клинического дополнительными генами метаболизма аминокислот, азотистых соединений, углеводов, органических кислот, модификации нуклеиновых кислот, генами транспортных белков и устойчивости к стрессовым факторам.

Таким образом, сравнительный анализ генома клинического штамма *P. kaohsiungensis* IMB-1 с природными штаммами показал возможную экологическую адаптацию, связанную с колонизацией человека и потенциальной патогенностью. Полученные данные расширяют представления о механизмах реализации патогенного потенциала новых видов бактерий и подчеркивают необходимость их мониторинга.

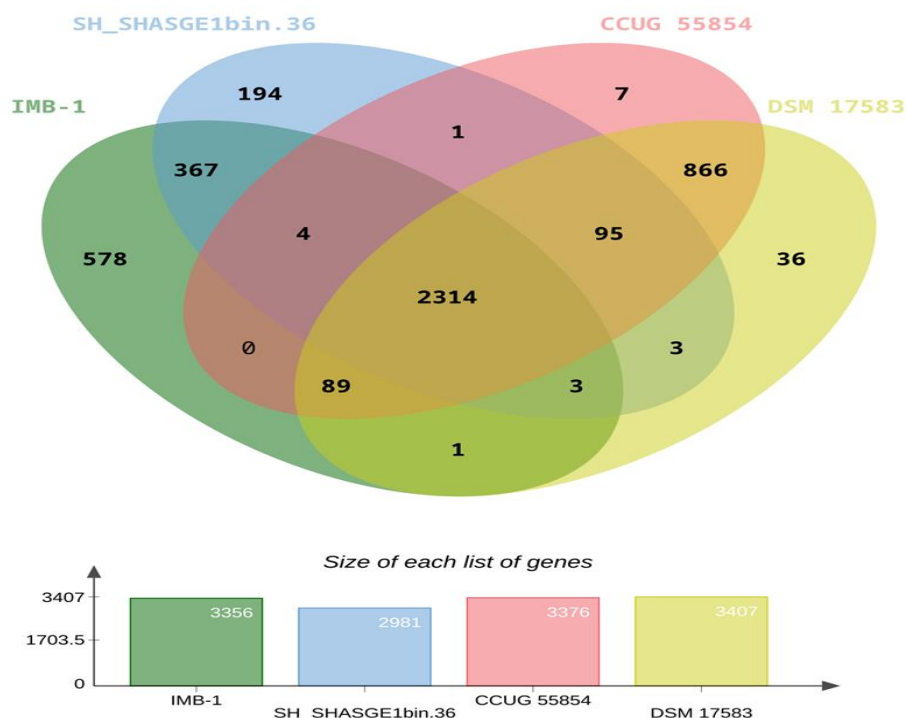


Рис. 1. Распределение общих и уникальных кластеров генов среди четырех геномов *P. kaohsiungensis*: клинического штамма IMB-1 и природных штаммов CUG 55854, DSM 17583 и SH_SHASGE1bin.36.

Исследование выполнено в рамках госзадания № 126020216227-3.

Литература

1. Kuo S.F. An oil refinery worker at Kaohsiung, with *Pseudoxanthomonas kaohsiungensis* bloodstream infection presenting as chronic pericarditis and masquerading as tuberculosis pericarditis. / S.F. Kuo, C.H. Lee // J Microbiol Immunol Infect. 2018. Vol. 51. P. 575-577.
2. Yinsai O., Yuantrakul S., Srisithan, P., et al. Genomic Insights into Emerging Multidrug-Resistant *Chryseobacterium indologenes* Strains: First Report from Thailand //Antibiotics. 2025. Vol. 14. P. 746.

ЭНДОФИТНОЕ МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО СЕМЯН ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ (*TRITICUM AESTIVUM*): ЗАЧЕМ МЫ ЗДЕСЬ СЕГОДНЯ СОБРАЛИСЬ?

К.И. Соловьева¹, Д.А. Тарасова¹, Н.А. Пронович¹, П.А. Курынцева¹

¹Институт экологии, биотехнологии и природопользования, ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) Федеральный Университет», г. Казань, polinazwerewa@yandex.ru

Эндосферный микробиом семян пшеницы имеет решающее значение для разработки биологических средств защиты растений. Эндофиты, передающиеся через семена, распространяются вертикально, укореняются на ранних стадиях развития всходов и существенно влияют на рост растений, использование им питательных веществ и его устойчивость к болезням на протяжении всего жизненного цикла [1-5]. К эндофитам относятся бактерии и грибы, характеризующиеся широким перечнем полезных функций, такими как антагонизм к основным патогенам пшеницы (например, грибы родов *Fusarium*, *Xanthomonas*, *Rhizoctonia*), разложение микотоксинов, а также синтез гормонов и мобилизация питательных веществ, что делает их идеальными кандидатами для создания безопасных и эффективных биологических средств защиты растений [6,7]. Разработка новых биологических средств защиты растений особенно важна для пшеницы, которая

занимает около 17% мировых обрабатываемых земель и является основным продуктом питания примерно для 35% населения планеты [1,2,6,7].

В работе было проанализирован состав и функциональный потенциал трех образцов семян пшеницы, выращенной на территории республики Татарстан, на основании данных метагеномного секвенирования. Предварительно проводили поверхностную стерилизацию семян, далее их измельчали, из полученной пробы выделяли тотальную ДНК набором FastDNA SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, США), которую в последствии амплифицировали и секвенировали гены 16S рПНК. Определяли общее количество ASV, индексы α -разнообразия, доминантные роды и функциональный потенциал эндофитных микробных сообществ семян пшеницы с использованием алгоритма PICRUST2. Параллельно, было проведено выделение эндофитных бактерий на питательные среды и проведен скрининг полезных свойств выделенных изолятов (способность синтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК), мобилизация труднорастворимых фосфатов, продукция целлюлитических и протеолитических ферментов, каталазная активность, способность формировать биопленки и антагонистической активности по отношению к бактериям-известным агентам биоконтроля - *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Azospirillum zeae*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus megaterium*).

Показано, что эндосферное сообщество пшеницы представлено 9-41 ASV, характеризуется невысоким индексом Шеннона (2,0-3,2) и относительно высоким индексом Симпсона (0,84-0,94). Во всех образцах доминируют роды Alistipes, Bacterioides. Эндосферное микробное сообщество пшеницы способно выполнять такие функции, как азотфиксация, восстановление нитратов и нитритов, мобилизацию фосфора, продукцию сидерофоров, транспорт железа, синтез ауксинов и механизмы устойчивости к окислительному и осмотическому стрессу. Из 16 выделенных изолятов 4 продуцируют ИУК, 12 способны мобилизовать труднорастворимые фосфаты, 2 изолята подавляют *Bacillus megaterium*, 9 продуцируют целлюлолитические ферменты, 3 – продуцируют протеолитические ферменты, у 16 установлена каталазная активность, 2 изолята характеризуются выраженной способностью к формированию биопленок. Полученные результаты совпадают с функциональным потенциалом, определенным на основании данных метагеномного секвенирования.

Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FZSM-2026-0029.

Литература

- Chen J., Sharifi R., Khan M.S.S. и др. Wheat Microbiome: Structure, Dynamics, and Role in Improving Performance Under Stress Environments // *Frontiers in Microbiology*. 2022.
- Kavamura V.N., Mendes R., Bargaz A., Mauchline T. Defining the wheat microbiome: Towards microbiome-facilitated crop production // *Computational and Structural Biotechnology Journal*. 2021.
- Giannelli G., Del Vecchio L., Cirilini M. и др. Exploring the rhizosphere of perennial wheat: potential for plant growth promotion and biocontrol applications // *Scientific Reports*. 2024.
- Salamon S., Mikołajczak K., Błaszczuk L. Constellation of the endophytic mycobiome in spring and winter wheat cultivars grown under various conditions // *Scientific Reports*. 2023.
- Díaz Herrera S.M., Grossi C., Zawoznik M., Groppa M.D. Wheat seeds harbour bacterial endophytes with potential as plant growth promoters and biocontrol agents of *Fusarium graminearum* // *Microbiological Research*. 2016.
- Kuźniar A., Włodarczyk K., Grządziel J. и др. New Insight into the Composition of Wheat Seed Microbiota // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020.

КАК МАНИПУЛИРОВАТЬ ЗАЩИТНЫМИ СИСТЕМАМИ ОРГАНИЗМА-ХОЗЯИНА? БЕЛКИ SVX ПЕКТОЛИТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ – РАННЕ НЕИЗВЕСТНЫЕ ИНДУКТОРЫ ВОСПРИИМЧИВЫХ ОТВЕТОВ РАСТЕНИЙ.

Н.В. Тендюк¹, Р. Васильев^{1,2}, О.Н. Макшакова¹, О.Е. Петрова¹, В.Ю. Горшков^{1,2}

¹Казанский институт биохимии и биофизики – структурное подразделение ФИЦ «Казанский научный центр РАН», г. Казань, natalya.tendyuk@mail.ru, olga.makshakova@kibb.knc.ru, poe60@mail.ru

²ФГАОУ ВО «КФУ», Институт фундаментальной медицины и биологии, г. Казань, vroma4713@gmail.com, gvy84@mail.ru

Растительная клеточная стенка (РКС) является ключевым плацдармом растительно-микробных взаимодействий, и во многом определяет особенности стратегии колонизации растения патогенами, в частности пектолитическими бактериями, такими как пектобактерии и дикейи. Пектолитические бактерии индуцируют модификации в РКС, связанные не только с формированием устойчивости, но и восприимчивости растений к патогенам [Gorshkov & Parfirova, 2023]. В ходе развития инфекционного процесса данные фитопатогены секретируют в апопласт различные факторы вирулентности, при этом функции некоторых из них в патогенезе остаются не изученными. К таким детерминантам патогенности относятся белки Svх. До нашего исследования было известно, что белки Svх секретируется пектобактериями в апопласт, синтез данных белков регулируется АГЛ-зависимой системой кворум сенсинга, а нокаут гена svх приводит к снижению вирулентности пектобактерий [Corbett *et al.*, 2005]. Однако конкретные функции этих белков оставались неизвестными. Таким образом целью данной работы было провести структурно-функциональную характеристику белков Svх фитопатогенных бактерий *Pectobacterium atrosepticum* и *Dickeya solani* и выяснить их роль в развитии инфекционных процессов у растений-хозяев.

В результате филогенетического анализа было показано, что белки Svх фитопатогенных и нефитопатогенных гаммапротеобактерий разделились на две клады, что вероятно свидетельствует о направленной эволюции Svх-гомологов у фитопатогенных гаммапротеобактерий. У представителей рода *Pectobacterium* в геномах гены svх представлены в единственном экземпляре, в то время как для некоторых представителей рода *Dickeya*, в том числе для объекта нашего исследования *Dickeya solani*, характерно наличие двух генов svх.

С помощью *in silico* подходов нами было установлено, что белок Svх *Pectobacterium atrosepticum* и белки Svх44 и Svх45 *Dickeya solani* вероятно являются цинк-зависимыми металлопротеазами, обладающими двумя доменами: протеазными и ацилтрансферазоподобными. Домены предполагаемых ферментов взаимодействуют между собой за счет гидрофобных связей и образуют электроотрицательно заряженные карманы, в которых расположены каталитические центры протеазных доменов, образованные консервативными цинк-связывающими мотивами и потенциальными углевод-связывающими аминокислотными остатками. У полученных нами очищенных препаратов рекомбинантных белков Svх *P. atrosepticum* и *Dickeya solani* действительно была обнаружена цинк-зависимая протеазная активность.

Для оценки роли целевых белков в индукции инфекционных процессов у растений мы проводили инфильтрацию этих белков в листья табака. Нами установлено, что белки Svх пектобактерий и дикейи обладают иммуносупрессорными свойствами, поскольку

способны сдерживать, индуцированное элиситором хитооктаозой, накопление перекиси водорода в листьях растения. Более того, все три белка вызвали увеличение содержания транскриптов этилен-регулируемых генов, активация экспрессии которых служит маркером восприимчивости растений к исследуемым бактериям. Данный факт свидетельствует о том, что Svх-протеазы служат инструментами для координирования физиологических процессов растения-хозяина.

С помощью молекулярного докинга нами было показано, что Svх-протеазы способны эффективно взаимодействовать с гликозилированными пептидами экстенсинов, у которых остаток галактозы связан с остатком серина через альфа-связь, а также связывать арабинановые цепи, характерные для данных гликопротеинов, в основном за счет эпитопов, расположенных на поверхности ацилтрансферазоподобного домена. Для проверки данной гипотезы мы получили мутантную форму белка Svх *P. atrosepticum* (*Pba Svх Pep*), содержащую протеазный домен без ацилтрансферазоподобного домена, а также выделили фракцию белков растительной клеточной стенки, обогащенную экстенсинами. С использованием этой фракции мы доказали, что белок Svх дикого типа действительно способен разрушать экстенсины, в отличие от мутантной формы, которая не деградировала данные гликопротеины, несмотря на то, что сохраняла протеазную активность и была способна гидролизовать модельный субстрат азоказеин с такой же эффективностью, что и белок Svх дикого типа. Кроме того, *Pba Svх Pep* в отличие от полноценного белка дикого типа, при инфильтрации в листья табака не вызывал индукцию экспрессии этилен-регулируемых генов – маркера восприимчивости растений к пектолитическим бактериям. Полученные результаты однозначно подтверждают, что мишенями белков Svх являются экстенсины, а функциональное назначение ацилтрансферазоподобного домена заключается в обеспечении эффективного взаимодействия фермента с лигандом и правильной ориентации субстрата в активном центре протеазного домена.

Расщепление Svх белками экстенсинов, структурных белков РКС, вероятно способствует разрушению этого компартмента и таким образом благоприятствует развитию патологического процесса. Однако роль белков Svх пектолитических бактерий в развитии инфекционных процессов вероятно, заключается не столько в нарушении структурной целостности РКС, сколько в координировании физиологических процессов растений-хозяев, так как экстенсины могут выступать участниками сигнальных каскадов, ассоциированных с сенсорными киназами плазмалеммы. В связи с этим можно предположить, что белки Svх путем воздействия на подобные молекулярные каскады, вероятно способны подавлять фитоиммунные реакции и активировать развитие восприимчивых ответов растений-хозяев.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ КазНЦ РАН.

Литература

Gorshkov, V. Host plant physiological transformation and microbial population heterogeneity as important determinants of the Soft Rot *Pectobacteriaceae*-plant interactions. [Text] / V. Gorshkov, O. Parfirova // Seminars in cell & developmental biology. – 2023. – V.148-149. – P. 33–41.

Corbett, M. Identification of a new quorum-sensing-controlled virulence factor in *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* secreted via the type II targeting pathway [Text] / M. Corbett, S. Virtue, K. Bell, P. Birch, T. Burr, L. Hyman, K. Lilley, S. Pooch, I. Toth G. Salmond // Mol. Plant-Microbe Interact. – 2005. – V. 18. – P. 334-342.

МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ КЛУБЕНЬКОВ, ФОРМИРУЕМЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ МЕЖКЛЕТОЧНОЙ ИНФЕКЦИИ

А.В. Цыганова, В.Е. Цыганов

В ходе эволюции бобовые и актиноризные растения (принадлежащие к азотфиксирующей кладе в пределах клады Fabids) приобрели способность развивать мутуалистические взаимоотношения с дiazотрофными бактериями. В этом симбиозе прокариоты фиксируют азот, который поступает к растениям в обмен на источники углерода и контролируемую среду.

Наиболее изученной симбиотической ассоциацией в пределах азотфиксирующей клады является ассоциация между бобовыми растениями и ризобиями. Одной из особенностей этого взаимодействия является образование специализированных органов, называемых клубеньками, которые обеспечивают подходящую микросреду для активности бактериальной нитрогеназы. Было описано большое разнообразие механизмов, которыми следуют ризобии при проникновении в корни Бобовых [Sprent, James, 2007; Ibáñez et al., 2016]. Считается, что наиболее примитивным и менее изученным механизмом является межклеточная инфекция. Однако в настоящее время показано, что подобное проникновение может наблюдаться и у видов с более сложной инфекцией с помощью инфекционной нити [Madsen et al., 2010].

При межклеточной инфекции ризобий описаны различные пути проникновения в корень: через срединные пластинки между двумя соседними клетками корневых волосков, через раны в местах выхода боковых корней (вход через трещины (англ. «crack entry»)), сквозь пространства у основания корневых волосков на выходящих боковых корнях или непосредственно между клетками неповрежденной эпидермы [Ibáñez et al., 2016]. У некоторых Бобовых с межклеточной инфекцией последующее внутриклеточное проникновение в клетки примордиев клубеньков происходит через инфекционную нить, которая образуется после инфицирования коры (Subba-Rao et al., 1995), тогда как у других видов образование инфекционной нити на любом этапе проникновения бактерий в корень отсутствует.

Одним из наиболее изученных механизмов проникновения по типу межклеточной инфекции является «вход через трещину», который наблюдается у *Arachis hypogaea* (арахис), принадлежащего к подсемейству Papilionoideae [Ibáñez et al., 2016; Sharma et al., 2020].

За некоторыми исключениями, например, *Aeschynomene* sp., *Sesbania* sp. и *Arachis* sp., молекулярным аспектам межклеточной инфекции было посвящено крайне мало исследований. Трещины в местах выхода бокового корня у арахиса инфицируются ризобиями через межклетники, и типичные эшиноменоидные клубеньки образуются в результате многократных делений клетки, инфицированной внутриклеточно. Арахис может иметь два разных механизма инфицирования: зависимый от Nod-фактора и независимый [Sharma et al., 2020]. При Nod-фактор-зависимом механизме клубенькообразования Nod-фактор необходим для инфицирования базальных клеток коры, а также для запуска клеточных делений и развития примордиев клубеньков. До сих пор не были идентифицированы те детерминанты, определяющие образование клубеньков, не зависящее от Nod-фактора.

Подобно инфицированию Бобовых через корневые волоски путем образования инфекционных нитей, для внутриклеточной инфекции арахиса важна соответствующая поверхность как бактериальной, так и растительной клетки. Инокуляция *A. hypogaea* мутантом *Bradyrhizobium*, у которого нарушена продукция внеклеточных полисахаридов, приводит к образованию клубенькоподобных структур [Morgante et al., 2007].

Многие аспекты развития клубеньков арахиса остаются неизученными, в том числе реорганизация тубулинового цитоскелета и симбиотического интерфейса.

Было проведено изучение симбиотического интерфейса клубеньков арахиса с помощью панели антител к компонентам растительной клеточной стенки и

арабиногалактановым белкам. Было показано, что в развивающихся клубеньках арахиса, в которых еще не произошла дифференцировка бактериоидов, наличие метилэтерифицированного гомогалактуронана снижено в клеточных стенках инфицированных клеток. Это может указывать на увеличение рыхлости клеточных стенок для лучшего проникновения ризобий в растительные клетки, поскольку пектины составляют связующий матрикс между целлюлозными микрофибриллами. Кроме того, было выявлено наличие специфического арабиногалактанового белка, меченого антителом JМ13, в цитоплазме инфицированных клеток, особенно на ранних стадиях развития клубенька. Этот арабиногалактановый белок специфически локализуется в эндодерме недетерминированных клубеньков, играющей роль кислородного барьера. Известно, что клубеньки арахиса с еще недифференцированными бактериоидами белого цвета; возможно, этот арабиногалактановый белок выполняет функцию кислородного барьера до запуска синтеза леггемоглобина.

Работа финансово поддержана грантом РНФ (24-16-00156).

Литература

- Ibáñez F., Wall L., Fabra A. Starting points in plant-bacteria nitrogen-fixing symbioses: intercellular invasion of the roots // *Journal of Experimental Botany*. 2016. Vol. 68. P. 1905-1918.
- Madsen L.H., Tirichine L., Jurkiewicz A., Sullivan J.T., Heckmann A.B., Bek A.S., Ronson C.W., James E.K., Stougaard J. The molecular network governing nodule organogenesis and infection in the model legume *Lotus japonicus*. // *Nature Communications*. 2010. Vol. 1. P. 1-12.
- Morgante C., Castro S., Fabra A. Role of rhizobial EPS in the evasion of peanut defense response during the crack-entry infection process. // *Soil Biology and Biochemistry*. 2007. Vol. 39. P. 1222–1225.
- Sharma V., Bhattacharyya S., Kumar R., Kumar A., Ibáñez F., Wang J., Guo B., Sudini H.K., Gopalakrishnan S., DasGupta M., Varshney R.K., Pandey M.K. Molecular basis of root nodule symbiosis between *Bradyrhizobium* and 'crack-entry' legume groundnut (*Arachis hypogaea* L.) // *Plants*. 2020. Vol. 9. P. 276.
- Sprent J.I., James E.K. Legume evolution: where do nodules and mycorrhizas fit in? // *Plant Physiology*. 2007. Vol. 144. P. 575-581.
- Subba-Rao N., Mateos P.F., Baker D., Stuart Pankratz H., Palma J., Dazzo F.B., Sprent J.I. The unique root-nodule symbiosis between *Rhizobium* and the aquatic legume, *Neptunia natans* (L. f.) Druce. // *Planta*. 1995. Vol. 196. P. 311-320.

ТУБУЛИНОВЫЙ ЦИТОСКЕЛЕТ В РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯХ

В.Е. Цыганов, А.Б. Китаева, П.Г. Кусакин, А.П. Горшков, А.В. Цыганова

Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, Санкт-Петербург, vetsyganov@arriam.ru

Взаимодействия растений и микроорганизмов включают в себя как мутуалистические, так и патогенные типы взаимодействия. Среди мутуалистических взаимодействий выделяются такие важные для сельскохозяйственного производства как арбускулярная микориза, бобово-ризобийный симбиоз и ассоциации растений со стимулирующими рост ризобактериями. В докладе будет проведен сравнительный анализ изменений тубулинового цитоскелета, ассоциированных с различными растительно-микробными взаимодействиями.

Арбускулярная микориза представляет собой наиболее древний тип симбиотических взаимодействий. При первом контакте гифы арбускулярного микоризного (АМ) гриба с эпидермальными клетками происходят перестройки кортикальных микротрубочек — паттерн их организации меняется от упорядоченного (косое расположение микротрубочек)

к неупорядоченному (микротрубочки перекрещиваются под разными углами) (Genre et al., 2005). Когда АМ-грибы колонизируют корень, сходные изменения происходят в клетках, в которых находятся ювенильные арбускулы, а также в примыкающих к ним клетках (Blancaflor et al., 2001). В процессе созревания арбускул наблюдается деполимеризация кортикальных микротрубочек, при этом формируется сеть эндоплазматических микротрубочек, окружающая арбускулу и соединяющие арбускулярные гифы между собой и с клеточным ядром (Genre, Bonfante, 1997, 1999; Blancaflor et al., 2001). В клетках, в которых арбускулы стареют, появляются новые длинные пучки кортикальных микротрубочек, формирующих упорядоченный паттерн косых микротрубочек (Blancaflor et al., 2001).

Изменения в организации тубулинового цитоскелета сопровождаются усилением экспрессии гена *Tuba3* в клетках, содержащих арбускулы (Bonfante et al., 1996), а также увеличением количества α -тубулина и γ -тубулина (Genre, Bonfante, 1997, 1999).

Инициация развития симбиотических клубеньков сопровождается значительными перестройками тубулинового цитоскелета в корневых волосках и в клетках коры, через которые инфекционная нить проникает вглубь корня (Tsyanov et al., 2018).

В процессе формирования зрелых клубеньков происходит дифференцировка инфицированных клеток, которые значительно увеличиваются в размерах, чтобы разместить тысячи временных клеточных органелл — симбиосом.

Нами было показано, что клеточная дифференцировка в азотфиксирующих клубеньках сопряжена с глубокими перестройками тубулинового цитоскелета. Проведенный сравнительный анализ организации микротрубочек у десяти видов бобовых растений, формирующих недетерминированные клубеньки (с продолжительной активностью меристемы) и восьми видов с детерминированными клубеньками (с ограниченной активностью меристемы) выявил общие и видоспецифические паттерны организации тубулинового цитоскелета.

К общим паттернам можно отнести нерегулярный паттерн (микротрубочки перекрещивались под разными углами) кортикальных микротрубочек в меристематических клетках, а также формирование сети эндоплазматических микротрубочек вокруг инфекционных нитей и инфекционных капель в инфицированных клетках.

В недетерминированных клубеньках в азотфиксирующих клетках эндоплазматические микротрубочки, проходя между симбиосомами, формировали различные паттерны организации, что совпадало с наблюдаемыми различиями в морфологии бактериоидов в клубеньках изученных видов бобовых растений. В детерминированных клубеньках был выявлен только нерегулярный паттерн эндоплазматических микротрубочек.

В неинфицированных клетках кортикальные микротрубочки формировали нерегулярный паттерн только в клубеньках *Glycine max* и *G. soja*, тогда как для остальных видов был характерен регулярный паттерн (микротрубочки были ориентированы поперечно продольной оси клетки).

В недетерминированных клубеньках в инфицированных клетках кортикальные микротрубочки формировали нерегулярный паттерн, а в зрелых клетках детерминированных — регулярный. В то же время в клубеньках *Arachis hypogea*, формирующих детерминированные клубеньки, но при этом характеризующихся особым типом инфекции через разрывы эпидермы, напротив, в молодых инфицированных клетках наблюдался упорядоченный паттерн кортикальных микротрубочек, который в зрелых инфицированных клетках менялся на неупорядоченный. Эта реорганизация кортикальных микротрубочек совпадает с дифференцировкой бактериоидов, которые приобретают шаровидную форму, а инфицированные клетки теряют вытянутую форму.

Выявленные различия в организации кортикальных микротрубочек в различных типах клубеньков, вероятно, указывают на эволюционный переход инфицированных клеток от анизотропного роста в детерминированных клубеньках к изотропному росту в

недетерминированных клубеньках, что обеспечило эволюционное преимущество видам Бобовых с недетерминированными клубеньками, позволяя им более эффективно размещать симбиосомы в инфицированных клетках. В этом ряду выделяется динамика кортикальных микротрубочек *A. hyrogea*, что может быть связано с особенностями инфицирования его клеток.

В свою очередь, связь разнообразия паттернов эндоплазматических микротрубочек, наблюдаемого в недетерминированных клубеньках, с разнообразием морфологии бактериоидов требует дальнейшего изучения.

Работа финансово поддержана грантом РФФИ (24-16-00156).

Литература

Blancaflor E.B., Zhao L., Harrison M.J. Microtubule organization in root cells of *Medicago truncatula* during development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis with *Glomus versiforme* // Protoplasma. 2001. Vol. 217. P. 154–165.

Bonfante P., Bergero R., Uribe X., Romera C., Rigau J., Puigdomenech P. Transcriptional activation of a maize α -tubulin gene in mycorrhizal maize and transgenic tobacco plants // Plant Journal. 1996. Vol. 9. P. 737–743.

Genre A., Bonfante P. A mycorrhizal fungus changes microtubule orientation in tobacco root cells // Protoplasma. 1997. Vol. 199. P. 30–38.

Genre A., Bonfante P. Cytoskeleton-related proteins in tobacco mycorrhizal cells: gamma-tubulin and clathrin localisation. European Journal of Histochemistry // 1999. Vol. 43. P. 105–111.

Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D.G. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection // Plant Cell. 2005. Vol. 17. P. 3489–3499.

Tsyganov V.E., Comparative analysis of tubulin cytoskeleton rearrangements in nodules of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum* / V.E. Tsyganov, A.B. Kitaeva, K.N. Demchenko // The Model Legume *Medicago truncatula*, First Edition. / Ed. F.J. de Bruijn. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2020. P. 547–553.

ТЕТРАМЕТИЛОВЫЙ ЭФИР КОПРОПОРФИРИНА III КАК ФАКТОР АДАПТАЦИИ МИКОБАКТЕРИЙ К СОСТОЯНИЮ ПОКОЯ И МИШЕНЬ ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ИНАКТИВАЦИИ

М.О. Шлеева¹, Д.И. Багаева¹, Г.Р. Демина¹, И.А. Линге², М.О. Агафонов¹, А.С. Капрельяниц¹, А.П. Савицкий¹

¹Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

²Лаборатория иммуногенетики, ФГБНУ «ЦНИИТ» РАН, Москва

При переходе микобактерий (*Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium smegmatis*) в состояние покоя, имеющее значение для развития латентного туберкулеза, в клеточных стенках накапливается тетраметиловый эфир копропорфирина III (ТМК) (рис. 1). Были исследованы механизмы образования этого соединения, идентифицированы ферменты, участвующие в его синтезе, а также изучено влияние накопления метилированных порфиринов на физиологические свойства бактерий *in vitro* и внутри макрофагов.

При инкубации лизата микобактерий с копропорфирином и S-аденозил-L-метионином образуется ТМК. Белок MSMEG_0614 обеспечивал полную конверсию копропорфирина в тетраметилованные формы. Гиперэкспрессия гена этой метилтрансферазы у *M. smegmatis* и *M. tuberculosis* приводила к усиленному накоплению ТМК как в покоящихся, так и в активно растущих клетках [Bagaeva et al., 2026].

Накопление ТМК коррелировало с повышением микровязкости цитоплазматической мембраны, измеренной по анизотропии флуоресценции зонда BODIPY FL C16. Увеличение вязкости наблюдалось как у покоящихся клеток, так и у вегетативных клеток,

культивируемых с добавлением 5-аминолевулиновой кислоты (АЛК) – предшественника синтеза порфиринов. При реактивации покоящихся клеток вязкость мембран снижалась до уровня, характерного для активных форм. В мембранах бактерий с повышенным содержанием ТМК наблюдалось снижение активности дыхательной цепи, что выражалось в уменьшении скорости потребления кислорода и восстановления 2,6-дихлорфенолиндифенола [Gligonov et al., 2024].

Увеличение концентрации ТМК в 3 раза сопровождалось ростом выживаемости бактерий при тепловом шоке и воздействии пероксида водорода, что указывает на возможную защитную роль метилированных порфиринов [Багаева и др., 2024]. В то же время накопление ТМК в клетках *M. tuberculosis* индуцировало выраженную фоточувствительность микобактерий при облучении светом 565 нм [Shleeва et al., 2024].. Критически важно, что аналогичный феномен наблюдался при персистенции бактерий в макрофагах в присутствии АЛК и у микобактерий, выделенных из легких мышей с хронической туберкулезной инфекцией (обнаружена характерная порфириновая флуоресценция и светочувствительность).

Таким образом, впервые идентифицирована метилтрансфераза MSMEG_0614, которая катализирует образование ТМК – молекулы с дуальным физиологическим значением. С одной стороны, ТМК выступает как эндогенный регулятор, повышающий вязкость мембран, снижающий дыхательную активность и увеличивающий устойчивость к стрессу. С другой стороны, его накопление делает бактерии уязвимыми к фотодинамическому воздействию. Выявленная фоточувствительность *M. tuberculosis* как в культуре, так и в составе инфекционного материала открывает перспективы для разработки фотодинамической терапии латентных форм туберкулеза.

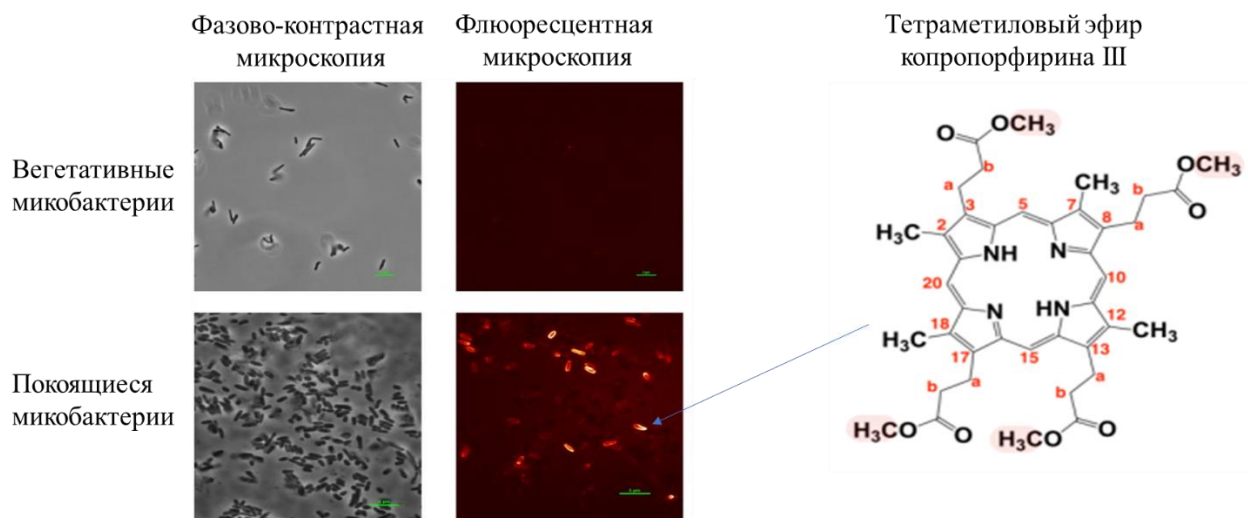


Рис. 1. Накопление тетраметилового эфира копропорфирина III (ТМК) в клетках *M. smegmatis* при переходе в состояние покоя.

Работа поддержана грантом РНФ 25-45-10015.

Литература

Багаева Д.И., Демина Г.Р., Агафонов М.О., Савицкий А.П., Капрельянц А.С., Шлеева М.О. Метилирование копропорфирина как механизм защиты микобактерий при неблагоприятных условиях // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2024. Т.65. №2. С. 121–127.

Bagaeva D.I., Demina G.R., Panina I.S., Krylov N.A., Khrenova M.G., Agaphonov M.O., Savitsky A.P., Efremov R.G., Kaprelyants A.S., Shleeve M.O. Methyltransferase CPmtA drives dormancy-associated synthesis of coproporphyrin III tetramethyl ether via a "carousel" mechanism in *Mycobacterium smegmatis* // Int J Biol Macromol. 2026. Vol. 358. P. 151714.

Glignonov I.A., Bagaeva D.I., Demina G.R., Vostroknutova G.N., Vorozhtsov D.S., Kaprelyants A.S., Savitsky A.P., Shleeve M.O. The accumulation of methylated porphyrins in dormant cells of *Mycobacterium smegmatis* is accompanied by a decrease in membrane fluidity and an impede of the functioning of the respiratory chain // Biochim Biophys Acta Biomembr. 2024. Vol. 1866(3). P. 184270.

Shleeve M.O., Linge I.A., Glignonov I.A., Vostroknutova G.N., Shashin D.M., Tsedilin A.M., Apt A.S., Kaprelyants A.S., Savitsky A.P. Acquiring of photosensitivity by *Mycobacterium tuberculosis* in vitro and inside infected macrophages is associated with accumulation of endogenous Zn-porphyrins // Sci Rep. 2024. Vol. 14(1). P. 846.

БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ФИТОГОРМОНОВ РИЗОСФЕРНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

**О.С. Юзихин¹, А.И. Шапошников¹, К.Н. Белорусов², Г.М. Фролова¹, А.А. Белимов¹,
Ю.В. Гоголев³**

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Пушкин, yuzikhin@gmail.com

²ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)", Санкт-Петербург

³ФГБУН "Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, gogolev.yuri@gmail.com

Многочисленные исследования показывают, что растительные гормоны значительно влияют на структуру и функцию ассоциированного с корнями (преимущественно симбиотического) микробиома. За миллионы лет сосуществования со своими хозяевами как симбиотические, так и патогенные микроорганизмы выработали множество стратегий колонизации ризосферы, включая способность синтезировать и катаболизировать растительные гормоны.

Так, фитопатогены способны не только ингибировать биосинтез фитогормонов в растениях, нарушая их взаимодействие и сигнальные пути с помощью разнообразных токсинов и эффекторов, но и деструктурировать их. Прежде всего это касается таких гормонов – регуляторов роста и развития растений, как ауксины, гиббереллины, цитокинины, брассиностероиды, стриголактоны и жасмоновая кислота. Кроме того, в литературе описан синтез гормона стресса абсцизовой кислоты (АБК) этими микроорганизмами. В целом стратегию фитопатогенов можно описать как разбалансировку гормонального статуса растения-хозяина с целью ослабления его иммунитета.

Симбиотические ризосферные микроорганизмы, напротив, стремятся поддержать оптимальный уровень различных фитогормонов, оказывающий благоприятное воздействие на растения. Симбиотическая микробиота даже в условиях абиотического и биотического стресса способна регулировать гомеостаз растительных гормонов. Прямые механизмы, посредством которых симбиотические микроорганизмы стимулируют рост растений и регулируют их физиологические функции, включают их способность синтезировать ауксины, гиббереллины и цитокинины. В то же время, биосинтез АБК, салициловой и жасмоновой кислот, благодаря активации и координации различных сигнальных путей, опосредует косвенные механизмы стимуляции роста растений, которые помогают снижению абиотического и биотического стресса.

В литературе есть немало примеров микробного катаболизма ауксинов, гиббереллинов, цитокининов, салициловой кислоты. В частности, хорошо изучена схема биодеструкции цитокининов с боковой алифатической цепью путём необратимого расщепления (деградации) ферментом цитокинин оксидазой/дегидрогеназой. Этот

ключевой фермент катализирует необратимую деградацию цитокининов и их рибозидов путём окислительного расщепления боковой цепи, он обнаружен у различных видов бактерий и гемибiotрофного фитопатогенного гриба *Leptosphaeria maculans*.

Другой пример – биодеструкция жасмоновой кислоты. *Aspergillus niger* i-400 превращал её через последовательные стадии гидроксирования и дегидроксирования пентенильной боковой цепи в транс-изомер. В культуральной жидкости *Pisolithus tinctorius* обнаружены 7-изо-кукурбиновая, 6-эпи-7-изо-кукурбиновая и кукурбиновая кислоты. Такой набор метаболитов может быть обусловлен гидрированием двойной связи в енольной форме жасмоновой кислоты.

В настоящее время известно два основных пути биodeградации индолилуксусной кислоты (ИУК), зависящих от условий развития бактерий – аэробный и анаэробный. Два различных набора бактериальных генов отвечают за биodeградацию ИУК: кластер *iac* (*iac*-оперон) – за аэробное разложение ИУК до катехола; кластер *iaa* (*iaa*-оперон) – за анаэробное превращение ИУК в 2-аминобензоил-КоА. Катехол и 2-аминобензоил-КоА являются центральными метаболитами в аэробном процессе катаболизма широкого спектра ароматических соединений – β -кетoadипиновый путь в центральном метаболизме, включающий окислительное орто- и мета-расщепление ароматического кольца с участием оксигеназ. Конечными продуктами их расщепления являются пируват, ацетил-КоА и сукцинил-КоА, которые являются промежуточными продуктами цикла трикарбоновых кислот. Этот путь позволяет микроорганизмам получить углерод и энергию, используя ИУК в качестве источника углерода и азота.

Абсцизовая кислота (АБК) способна накапливаться в почве и оказывать негативное влияние на прорастание семян, угнетать рост и повышать чувствительность растений к болезням. Авторский коллектив впервые провёл ряд исследований с целью изучить механизмы биодеструкции АБК ризосферными бактериями, в частности штаммами *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W из коллекции ФГБНУ ВНИИСХМ [Syrova, 2022; Belimov, 2014; Yuzikhin, 2021; Yuzikhin, 2022].

Было установлено, что утилизация АБК *Rhodococcus* происходит путём последовательного укорачивания боковой цепи молекулы через стадию образования дегидровимифолиола [Yuzikhin, 2021] вплоть до родококковой кислоты [Yuzikhin, 2022], после чего наблюдается трансформация циклогексенонового цикла через стадии окисления до оксародококковой кислоты и последующего гидрирования до дигидрооксародококковой кислоты. Родококковая кислота и два продукта её метаболизма были выделены авторами и структурно идентифицированы впервые. По-видимому, последующий гидролиз молекулы дигидрооксародококковой кислоты приводит к образованию гликозидо-подобного циклического тетраола и дальнейшему раскрытию цикла.

Проведённые исследования показали, что у *Novosphingobium* sp. P6W реализуется другой, уже описанный в литературе для растений, путь метаболизма АБК, начинающийся с окисления АБК до фазеевой кислоты и дальнейшим её гидрированием до дигидрофазеевой кислоты. То есть, в отличие от стратегии, установленной для штамма *Rhodococcus* sp. P1Y, у *Novosphingobium* sp. P6W происходит предварительное раскрытие цикла молекулы с последующим поэтапным укорочением ациклической молекулы.

Авторами изучены динамики биодеструкции АБК и показано, что в отличие от *Rhodococcus* sp. P1Y, где наблюдается последовательный рост бактерий с самого начала культивирования, лимитирующими стадиями катаболизма фитогормона штаммом *Novosphingobium* sp. P6W являются первые стадии, а именно – трансформация и раскрытие циклической части молекулы. На этом этапе заметного роста бактерий не наблюдается, что связано, по-видимому, с необходимостью накопления в среде достаточного количества субстрата – начальных продуктов трансформации АБК.

Литература

Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I. et al. Absciscic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth // Plant Physiology and Biochemistry. 2014. Vol. 74. P. 84-91. DOI: 10.1016/j.plaphy.2013.10.032.

Syrova D.S., Shaposhnikov A.I., Yuzikhin O.S., Belimov A.A. Destruction and transformation of phytohormones by microorganisms // Applied Biochemistry and Microbiology. 2022. Vol. 58. P. 1-18. DOI: 10.1134/S0003683822010094.

Yuzikhin O.S., Gogoleva N.E., Shaposhnikov A.I. et al. Rhizosphere bacterium Rhodococcus sp. P1Y metabolizes abscisic acid to form dehydrovomifoliol // Biomolecules. 2021. Vol. 11. N 3. P. 345. DOI: 10.3390/biom11030345.

Yuzikhin O.S., Shaposhnikov A.I., Konnova T.A. et al. Isolation and characterization of 1-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-4-oxo-2-cyclohexene-1-acetic acid, a metabolite in bacterial transformation of abscisic acid // Biomolecules. 2022. Vol. 12. N 10. P. 1508. DOI:10.3390/biom12101508.

Секция 3

Микробные сообщества как функциональные единицы адаптации

«ГЕНЕТИЧЕСКИЙ РЕЗЕРВУАР» МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ГИДРОТЕРМ БАЙКАЛЬСКОЙ РИФТОВОЙ ЗОНЫ

Д.Д. Бархутова, Э.В. Данилова, Е.В. Лаврентьева

Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия,

darima_bar@mail.ru

В термофильном сообществе гидротерм Байкальской рифтовой зоны в результате профилирования по гену 16S рРНК ранее было выявлено разнообразие таксонов [Barkhutova et.al., 2024]. Сравнительный анализ состава доминирующих таксонов показал различия в зависимости от места отбора и типа пробы. Наиболее обильно представленные таксоны могут использовать широкий спектр субстратов и активно управлять биогеохимическими циклами, поскольку занимают обширные ниши в среде обитания и метаболически универсальны [Pedrós-Alió, 2012]. Редкие таксоны имеют особые предпочтения к среде обитания, узкую нишу и ограниченную конкурентоспособность, и также обладают разнообразными метаболическими свойствами. Это позволяет им быстро реагировать на изменения окружающей среды, и их изначально высокое разнообразие может усилить устойчивость и долгосрочную стабильность функционирования экосистемы [Hou et al., 2025]. Исследования последних лет подчеркнули важность редких таксонов в поддержании структуры и функций сообществ в различных экосистемах.

В нашем исследовании были оценены микробные субсообщества: А - обильное (>1% ОТЕ); I – промежуточное (0,1-1% ОТЕ); R – редкое (<0,1% ОТЕ) в осадках гидротерм с температурой от 36 до 90°C (всего 12 образцов). Наиболее высокий вклад в термофильное сообщество вносили редкое субсообщество при температуре 75-90°C (до 40%), наиболее низкий – при температуре 36,3°C (1%). На уровне филума редкие субсообщества (до 28 филумов) охватывали больше таксономических групп, чем обильные (до 11 филумов) и промежуточные (до 22 филумов) субсообщества.

Таблица - Характеристика обильных, промежуточных и редких субсообществ в зависимости от температуры

Субсообщества	Показатели	t, °C		
		75-90	41- 62,4	36,3
А	ОТЕ, %	0,4-5,7	4,3-10,2	23,6

	Доля в сообществе, %	7-68,5	55-83,2	94
	Количество филумов	1-9	8-11	6
I	ОТЕ, %	11-33,7	25,6-40	29,1
	Доля в сообществе, %	23,9-53	19,5-40	5
	Количество филумов	6-15	15-22	10
R	ОТЕ, %	60,6-87,4	49,8-67	47,3
	Доля в сообществе, %	7,6-40	3,4-7,5	1
	Количество филумов	16-24	17-28	10

В микробном сообществе гидротерм выявлено 27 кандидатных филумов, а также большое количество неклассифицированных прокариот (до 85% от общего количества последовательностей). Широко представлены кандидатные типы DPANN (0,1-1% от всего сообщества), *Bipolaricaulota* (1,6-24,6%), *Hydrogenedentes* (0,7-1,9%), *Parcubacteria* (0,5-1,26%), *Aminicenantota* (0,4-5%), *Microgenomates* (0,004-0,26%), *Omnirophica* (0,01-0,2%), бактериальный тип BRC1 (0,1-0,16%), *Saccharibacteria* (0,04%) и др.

В гидротермах с диапазоном температур от 41 до 75°C одна из наиболее представленных групп была связана с некультивируемым типом «*Candidatus Bipolaricaulota*» (ранее «*Ca. Acetothermia*» и подразделение OP1). Этот тип относится к одной из самых ранних эволюционирующих бактериальных линий, бактерии этого типа сохраняют предковые черты фиксации углерода по пути Вуда-Льюнгаля, который мог использовать последний общий предок всех организмов (LUCA) для фиксации углерода в анаэробных гидротермальных условиях на ранней Земле [Colman et al., 2022]. Также среди обильных бактерий выявлены таксоны кандидатного филума «*Candidatus Aminicenantes*» (*Aminicenantes genera incertae sedis*, 2,6% от общего количества таксонов). Бактерии *Armatimonadota* в основном представлены в промежуточных субсообществах. Бактерии «*Candidatus Hydrogenedens*» достигали 1,5% от всех ОТЕ в обильном субсообществе. При температуре 42–75°C в обильном, промежуточном и редком субсообществах были обнаружены представители некультивируемой группы Sva0485 (до 5,2% от всех ОТЕ). Бактерии суперфилума *Patescibacteria*, были выявлены во всех биотопах гидротерм в промежуточных и редких субсообществах и составляли в общем количестве 0,004-1,6%. В осадках при температуре 75°C были обильными представители архей «*Candidatus Bathyarchaeota*» (ранее *Miscellaneous Crenarchaeotic Group*) (4,75%), ОТЕ которых выявлены как в обильных (3,6%), так и в промежуточных и редких подсообществах.

Таким образом, в гидротермах Байкальской рифтовой зоны выявлено большое таксономическое разнообразие термофильного сообщества. Архейная и бактериальная биосфера гидротерм состоит из сложного набора некультивируемых прокариот. Многие из них относятся к микробной редкой биосфере и представляют важный «генетический резервуар», который, вероятно, играет фундаментальную роль в функционировании экосистемы. Исследование расширяет понимание разнообразия, метаболического потенциала и глобального распространения прокариот типа *Candidatus*.

Литература

Barkhutova D.D., Zaitseva S.V., Danilova E.V., Lavrentyeva E.V., Radnagurueva A.A., Tsyrenova D.D., Banzaraksaeve T.G., Dagurova O.P. Microbial diversity and distribution patterns in thermal springs of the Baikal Region with different physicochemical parameters // Microbiology. – 2024. - Vol. 93, N 1. - P. S105–S110. DOI: 10.1134/S0026261724609515

Hou Q., Xia R., Yuan B. et al. Divergent community assembly processes and multifunctionality contributions of abundant and rare soil bacteria during a 53-year restoration in the Tengger Desert, China // Commun Biol. – 2025. – N 8: 1376. DOI:10.1038/S42003-025-08764-8

Colman D., Kraus E., Thieringer P., Rempfert K., Templeton A., Spear J., Boyd E. Deep-branching acetogens in serpentinized subsurface fluids of Oman // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. - 2022. - 119(42):e2206845119. DOI: 10.1073/pnas.2206845119

Pedros-Alíó C. The rare bacterial biosphere//Annu. Rev. Mar. - 2012. - N 4. - P. 449–466.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА И АКТИВНОСТИ КАТАЛАЗЫ ДЕРНОВО-ПОДЗОЛИСТОЙ ПОЧВЫ ПРИ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ

Р.С. Гамзаева

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, г. Пушкин,
r.gamzaeva@yandex.ru

Введение. Нефтяное загрязнение относится к числу наиболее опасных антропогенных факторов, вызывающих глубокие преобразования структуры почвенных микробиоценозов и ферментативной активности почв [Kiss et al., 1998; Каримуллин и др., 2015]. Согласно исследованиям [Gamzaeva, 2021; Беловежец, 2021], углеводороды нефти могут служить субстратом для углеводородокисляющих микроорганизмов, однако высокие концентрации поллютанта подавляют развитие многих групп почвенной микробиоты. Одним из ключевых показателей состояния почвы при загрязнении является активность оксидоредуктаз, в частности каталазы, которая отражает интенсивность окислительно-восстановительных процессов [Беловежец, 2021; Каримуллин и др., 2015]. Изучение реакции отдельных таксономических и функциональных групп микроорганизмов на различные уровни нефтяного загрязнения, а также оценка эффективности биопрепаратов на основе бактерий-деструкторов являются актуальными задачами для совершенствования методов биоремедиации [Третьякова и др., 2021; Gamzaeva, 2021].

Цель работы – оценить влияние различных концентраций нефти на численность основных групп микроорганизмов и активность каталазы в дерново-подзолистой почве, а также определить эффективность микробного препарата для восстановления микробиологических показателей и деградации нефти.

Материалы и методы. Вегетационный опыт закладывали в сосудах Кирсанова. Почва – дерново-подзолистая среднесуглинистая (гумус – 2,5%, подвижные P_2O_5 и K_2O – соответственно 118 и 267,4 мг/кг, pH_{KCl} – 5,8. Схема опыта включала контроль (без загрязнения), NPK-фон, варианты с внесением нефти (2000, 6000 и 10000 мг/кг) отдельно и в сочетании с микробным препаратом (2 мл на сосуд согласно рекомендации производителя). В состав препарата входили штаммы *Acinetobacter calcoaceticus* ИБ ДТ-5.1/1 и *Ochrobactrum intermedium* ИБ ДТ-5.3/2. Исследования проводили на опытном поле СПбГАУ; загрязнитель – нефть марки Urals. Отбор образцов – на 30-е и 90-е сутки. Численность микроорганизмов определяли чашечным методом Коха на плотных средах: МПА (аммонификаторы), среда Чапека–Докса (микромикетты), КАА (актиномикетты). Активность каталазы – по методу Галстяна, остаточное содержание нефтепродуктов – методом ИК-спектроскопии.

Результаты. Установлено, что низкая концентрация нефти (2000 мг/кг) стимулирует рост аммонификаторов: на 90-е сутки их численность составила 600 тыс. КОЕ/г при 340 тыс. КОЕ/г в контроле. Высокая концентрация (10000 мг/кг) приводила к резкому подавлению – до 4 тыс. КОЕ/г. Применение микробного препарата усиливало стимулирующий эффект: в варианте с 2000 мг/кг и препаратом численность бактерий достигала 960 тыс. КОЕ/г (в 2,8 раза выше контроля). Даже при максимальной дозе нефти на фоне препарата количество аммонификаторов частично сохранялось (29 тыс. КОЕ/г), тогда как без препарата оно снижалось до 4 тыс. КОЕ/г.

Микромицеты оказались наиболее устойчивой группой. Через 90 суток в вариантах с 2000 и 6000 мг/кг их численность превышала контрольные значения в 1,5–2 раза; даже при 10000 мг/кг грибы сохраняли жизнеспособность. Вероятно, это связано с подкислением почвенной среды при разложении углеводов, что благоприятствует развитию микромицетов. Биопрепарат не только восстанавливал бактериальную численность, но и стимулировал развитие микромицетов.

Актиномицеты проявили высокую чувствительность. Уже при 6000 мг/кг их численность снизилась более чем в 5 раз по сравнению с контролем, а при 10000 мг/кг – практически до нуля. К 90-м суткам восстановления не наблюдалось. Внесение биопрепарата незначительно повышало численность актиномицетов, но полного восстановления не происходило. Таким образом, актиномицеты могут служить индикатором сильного нефтяного загрязнения.

Активность каталазы возрастала во всех вариантах с нефтяным загрязнением; максимальные значения (в 2–3 раза выше контроля) зафиксированы при концентрации 2000 мг/кг. Внесение биопрепарата дополнительно повышало активность (до 17,0 мл О₂ за 2 мин на 1 г почвы), что свидетельствует об интенсификации микробиологического окисления углеводов. В таблице представлены данные по деградации нефтепродуктов.

Таблица. Влияние биопрепарата на степень деструкции углеводов нефти, мг/кг

Варианты опыта	Содержание нефтепродуктов	Степень деградации, %	Содержание нефтепродуктов	Степень деградации, %
	30 сутки		90- сутки	
Контроль	-	-	-	-
НРК-фон	-	-	-	-
Фон+2000 мг/кг нефти	1910	4,5	1580	21,0
Фон+6000 мг/кг нефти	5630	6,2	4620	23,0
Фон+10000 мг/кг	9440	5,6	8020	19,8
Фон+2000 мг/кг + биопрепарат	1680	18,6	1220	39,0
Фон+6000 мг/кг + биопрепарат	4950	17,5	3450	42,5
Фон+10000 мг/кг + биопрепарат	8410	15,9	5380	46,2
НСР ₀₅	240	-	370	-

Примечание. В вариантах контроль и НРК-фон содержание нефтепродуктов не определялось.

Деградация нефти через 30 суток без биопрепарата не превышала 4,5–6,2% от исходного содержания; с биопрепаратом – 15,9–18,6%. К 90-м суткам без препарата деградировало 19,8–23,0% нефти, тогда как в присутствии биопрепарата – 39,0–46,2%. Наибольшая эффективность отмечена при исходной концентрации 10000 мг/кг в сочетании с биопрепаратом: степень деградации достигла 46,2%, что более чем вдвое превышает соответствующий контроль без препарата.

Заключение. Нефтяное загрязнение дерново-подзолистой почвы вызывает дозозависимые изменения в структуре микробного сообщества: стимуляция бактерий-аммонификаторов и микромицетов при концентрации 2000 мг/кг и глубокое угнетение актиномицетов при 6000–10000 мг/кг. Микромицеты проявляют высокую устойчивость к нефти даже в максимальной дозе. Применение биопрепарата на основе *Acinetobacter calcoaceticus* и *Ochrobactrum intermedium* эффективно восстанавливает численность

бактерий-аммонификаторов, стимулирует развитие микромицетов, повышает каталазную активность и обеспечивает в 1,7–2,0 раза более высокую (по сравнению с фоном без препарата) деградацию нефти к 90-м суткам. Рекомендовано использование биопрепарата при умеренном загрязнении (2000–6000 мг/кг) для ускорения биоремедиации.

Литература

- Беловежец Л.А. Эколого-биохимические процессы, протекающие при трансформации органических субстратов, и возможности их практического использования для биоремедиации почв: дис. ... д-ра биол. наук: 03.02.08 / Беловежец Людмила Александровна. – Иркутск, 2021. – 292 с.
- Каримуллин Л.К., Петров А.М., Вершинин А.А., Шурмина Н.В. Физиологическая активность почв при разных уровнях нефтяного загрязнения // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2015. – Т. 17, № 4(4). – С. 797-803.
- Третьякова М.С., Беловежец Л.А., Соколова Л.Г., Зорина С.Ю., Маркова Ю.А. Влияние ризосферных бактерий-нефтедеструкторов на биологическое состояние почвы, загрязненной нефтью // Теоретическая и прикладная экология. – 2021. – № 2. – С. 156-162.
- Gamzaeva R.S. Influence of oil pollution on the surface of the microbial community and catalase activity of sod-podzolic soil // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – С. 052023.
- Kiss S., Paşca D., Drăgan-Bularda M. Enzymology of Disturbed Soils // Developments in Soil Science. – Vol. 26. – Amsterdam: Elsevier, 1998. – 336 p.

РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ РЕК СЕЛЕНГА И УДА В ГОРОДСКОМ ЛАНДШАФТЕ (Г. УЛАН-УДЭ)

О.П. Дагурова, С.В. Зайцева

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

Река Селенга является крупнейшим притоком озера Байкал, обеспечивая до половины его водного стока, река Уда — её значительный приток, протекающий через город Улан-Удэ. Антропогенная нагрузка, включающая сбросы сточных вод, сельскохозяйственный сток и рекреационное воздействие, существенно влияет на микробные сообщества, которые служат чувствительными индикаторами качества воды. Целью настоящей работы было сравнить таксономический состав и разнообразие микробных сообществ в воде рек Селенга и Уда в городском ландшафте г. Улан-Удэ.

Было проанализирована вода, отобранная в 2022 г. на 7 станциях реки Селенга: С1 (Усть-Кяхта), С2 (Новоселенгинск), С3 (протока, до города Улан-Удэ), С4 (город, мост через Селенгу), С5 (после города, левый берег), С6 (после города, правый берег) и С7 (Петуховка, ниже города). На реке Уда отобрана вода с 2 станций в городе Улан-Удэ: Уда1 (город, протока) и Уда2 (город, впадение в р. Селенга). Проведено секвенирование 16S рРНК (регионы V3–V4), биоинформатический анализ выполнен в QIIME2 с использованием базы SILVA 138. Секвенирование проводили в ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ на секвенаторе MiSeq (Illumina). Таксономическое профилирование проведено на уровнях филумов, семейств и родов.

На уровне филумов сообщество реки Селенга характеризовалось высоким содержанием Actinobacteriota (19–41%), Bacteroidota (12–42%), Bacillota (1–18%) и класса Gammaproteobacteria (13–30%). Вдоль течения от С1 до С7 наблюдалось снижение долей Actinobacteriota (с 41% до 19%), Bacillota (с 18% до 1–4%) и рост Bacteroidota (с 12% до 34%). Река Уда отличалась почти полным отсутствием Gammaproteobacteria (<0,2 %), высоким содержанием Deinococcota (17,9% в Уда1, 4% в Уда2), значительной долей Bacillota (18% в Уда1, 28% в Уда2). Некоторые филумы, такие как Armatimonadota, Bdellovibrionota, Patescibacteria и археи, встречались только в Селенге, тогда как Deinococcota были уникальны для Уды.

На уровне семейств и родов в сообществах рек были выявлены более значительные различия в составе доминирующих таксонов. В верхнем течении Селенги (C1–C2) доминировали семейства *Bacillaceae* (13%), *Nocardioidaceae* (7%), *Sporichthyaceae* (7%), *Streptomycetaceae* (7%) и *Micrococcaceae* (5%), а среди родов преобладали *Bacillus*, *Nocardioides*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Micromonospora* и *Aeromonas*. В пробах воды Селенги, отобранных в городском ландшафте (C3–C7), происходила перестройка сообщества: резко возрастала доля рода *Flavobacterium* (до 24% в C3) и неклассифицированных *Comamonadaceae* (до 21 % в C4), появлялись роды *Ferruginibacter* (7,5%), *Paracoccus* (9,3%), *Shewanella* (4,9%) и *Clostridium* (1,0%), а доля родов *Bacillus*, *Nocardioides*, *Rhodococcus* и *Mycobacterium* уменьшалась. Точка C3 (протока до города) отличалась максимальным таксономическим богатством (17 родов с уникальным присутствием). В реке Уда наблюдалась сильная гетерогенность между двумя точками. Уда2 была сходна с нижней Селенгой: в ней было высоко содержание *Flavobacterium* (23,6%) и unclassified *Comamonadaceae* (19,8%), а также присутствовали цианобактерии *Tychonema* (4,6%). Уда1 (протока) сильно отличалась: здесь доминировали *Deinococcus* (17,9%), *Streptomyces* (13,1%), *Exiguobacterium* (9,2%) и *Polynucleobacter* (5,2%), а также отмечены цианобактерии *Cyanobium* (2,1%).

Анализ альфа-разнообразия показал, что индекс Шеннона был максимальным в городском ландшафте Селенги ($4,03 \pm 0,12$), промежуточным — в верхней Селенге ($3,87 \pm 0,03$) и минимальным — в Уде ($3,62 \pm 0,23$). Аналогичная закономерность наблюдалась для индексов Симпсона, Пиелу и Chao1. Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) подтвердил статистически значимые различия между Селенгой в районе города и Удой по всем показателям ($p < 0,05$ для индексов Симпсона, Пиелу и Chao1, $p = 0,002$ для индекса Шеннона). Различия между станциями «верхней» и «нижней» Селенги были значимы только по индексу Шеннона ($p = 0,048$). Корреляционный анализ выявил сильные положительные связи между всеми индексами (r от 0,87 до 0,97), что позволяет рекомендовать индекс Шеннона как универсальный показатель в данном исследовании.

Кластерный анализ по коэффициенту Жаккара позволил выделить группы микробных сообществ: в верхнем течении Селенги (C1 и C2) (сходство 0,68), в течении Селенги в городе (C4–C7) (сходство 0,45–0,55), точка C3 заняла переходное положение между группами. Точка Уда2 была обособлена, но похожа на образцы из Селенги в городе, тогда как Уда1 оказалась изолированной точкой: её сходство с любым другим образцом не превышало 0,25. Выделено ядро сообщества из 50 родов, присутствующих во всех точках обеих рек, — оно включает unclassified *Comamonadaceae*, *Flavobacterium*, *hgcl clade*, *Polynucleobacter*, *Exiguobacterium*, *Pseudarcicella*, *Sphingorhabdus* и др.

Таким образом, выявлено, что микробные сообщества рек Селенга и Уда в городском ландшафте различаются по доминирующим таксонам и разнообразию. В Селенге наблюдается градиент от сообщества с доминированием *Actinobacteriota* и родов *Bacillus*, *Nocardioides* в верхнем течении к сообществу с доминированием *Flavobacterium* и *Comamonadaceae* в нижнем течении (в городе). Микробное сообщество реки Уды было сходно с сообществом Селенги в городе на одной станции, на второй станции развивалось сообщество с высоким содержанием стресс-устойчивых родов *Deinococcus* и *Streptomyces*, что может указывать на особые экологические условия развития, возможность локального техногенного воздействия.

Исследования выполнены в рамках темы Госзадания «Микробные сообщества экстремальных природных и антропогенных экосистем: структурно-функциональная организация и биотехнологический потенциал» (№ 126021217178-4).

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ВОСПРИИМЧИВОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ В СМЕШАННЫХ СООБЩЕСТВАХ

А.Р. Каюмов¹, А.В. Миронова¹, Л.М. Айзатуллина,¹ С.А. Лисовская^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Казанский (Приволжский) федеральный университет", г. Казань,
kairatr@yandex.ru, amironova2019@mail.ru, aizatullina14@mail.ru

² ФБУН Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии,
г. Казань, s_lisovskaya@mail.ru

В последние годы все больше клинических данных говорит в пользу существования патогенных микроорганизмов в составе сложных сообществ, и оценка восприимчивости к противомикробным препаратам для монокультур может существенно отличаться от ситуации в смешанных культурах. С момента пандемии Sars Cov2 особенно остро стоит вопрос борьбы с грибково-бактериальными инфекциями, в которых сложные взаимодействия грибок-бактерия-хозяин приводят к непредсказуемым изменениям чувствительности сообщества. Восприимчивость *S. aureus* и *P. aeruginosa* к ципрофлоксацину повышалась в присутствии *C. albicans* в 4 и 16 раз соответственно. Следовательно, *C. albicans* продуцирует метаболиты, влияющие на чувствительность бактерий к фторхинолону. Аналогично, высокая восприимчивость *C. albicans* к флуконазолу отмечалась в присутствии стафилококка, и в меньшей степени в присутствии *P. aeruginosa*. Интересно, что данный эффект в смешанных сообществах *C. albicans* - *S. aureus* и *C. albicans* - *P. aeruginosa* наблюдался на фоне 10-100 кратной индукции экспрессии генов *CDR1*, *CDR2*, *MDR1* и *ERG11*, участвующих в устойчивости дрожжей к азолам. Повышение восприимчивости дрожжей к флуконазолу и уровня экспрессии генов устойчивости также сохранялась при росте дрожжей в присутствии бесклеточной культуральной жидкости *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Это позволяет говорить о наличии антимикотических метаболитов в БКЖ данных бактерий. Также в сообществе *C. albicans* - *S. aureus* подавлялась экспрессия генов *ALS3* и *SYR1*, обеспечивающих прикрепление *C. albicans* к субстрату и морфогенез, тем самым снижая способность гриба к адгезии и образованию гифов. При этом происходило повышение уровня *HWP1*, регулятора адгезии и биопленкообразования. Эти данные коррелировали с наблюдаемыми изменениями структуры биопленки по данным микроскопии.

Анализ структуры матрикса биопленок выявил, что в двувидовом сообществе *C. albicans* - *S. aureus* распределение α - и β -полисахаридов и белков такое же как и в моновидовой культуре *S. aureus*. По всей видимости, *S. aureus* играет ведущую роль при формировании структуры смешанной биопленки. Золотистый стафилококк также снижал экспрессию генов *ALS3* и *CYR1* *C. albicans*, подавляя переход кандиды из дрожжевой формы в гифальную. Вероятно, поэтому не наблюдалось гифообразования на результатах микроскопии. Синегнойная палочка также, как и золотистый стафилококк, влияла на снижение экспрессии *CYR1* и повышение *HWP1*, однако повышала уровень *ALS3*.

Таким образом, понимание физиологических, биохимических и генетических процессов, происходящих в смешанных культурах, представляет фундаментальный интерес для молекулярной микробиологии, и может послужить основой для поиска новых молекулярных мишеней для лекарственных препаратов, а также адъювантов для уже используемых средств противомикробной терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-14-00194, <https://rscf.ru/project/24-14-00194>.

**ДИНАМИКА МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ РОССИЙСКИХ РЖАНЫХ ЗАКВАСОК ДЛЯ
ХЛЕБОПЕКАРНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

Секция 4

Целенаправленное использование адаптационного потенциала микроорганизмов в биотехнологии

Гибернация бифидобактерий – феномен штамма и природное свойство.

Байбаков В.И.

ООО «Биокор», kefinar@mail.ru, наукоград Кольцово, НСО

Длительное сохранение жизнеспособности бактерий-пробиотиков, не в искусственном (лиофильно высушенном), а в естественном состоянии, проблема актуальная. Ближе всего решение этой проблемы лежит в русле изучения механизма гибернации. Ученые разных стран [Chinenye L., 2024], исследующие гибернацию бактерий, считают, что под воздействием факторов гибернации у части клеток популяции формируется дормантное (“дремлющее”) состояние с очень низкой скоростью метаболических процессов. Это не генетическая мутация, а физиологическое свойство общей популяции бактерий. Оно придает им толерантность и способность к выживанию в присутствии токсинов и непрерывного стресса. В реализации гибернации ключевая роль принадлежит бактериальным рибосомам. Поскольку, по оценкам, более 60% микробной биомассы Земли в любой момент времени находится в различных состояниях покоя, вероятно, что гибернация рибосом является преобладающим состоянием бактериальных рибосом. Известны молекулярные факторы гибернации. В наиболее изученной бактерии, *Escherichia coli*, по меньшей мере 7 белков служат факторами гибернации, они были обнаружены практически во всех видах бактерий. Активаторами гибернации являются также особые метаболиты в клетке.

В 2001 году из арбитражной пробы серийного жидкого концентрата бифидобактерий (ЖКБ), на штамме *B.bifidum* №791БАГ (ЗАО «Вектор-БиАльгам»), после 3-х месячного, конечного срока хранения пробы (+8+10С°), автором штамма были сделаны посевы в пробирки со средой культивирования Блаурокка. После посева пробирки со средой были освобождены от кислорода воздуха. После 1 суточной инкубации (+37С°), пробирки, с плотно выросшими в них колониями бифидобактерий поместили в холодильник, (+8+10С°). У автора было намерение дальнейшего изучения сохранности бактерий *B.bifidum* №791БАГ, при таком хранении в течение 1 года, но оно оказалось отложено, в силу многих причин.....на 24 года! В конце 2025 г, в микробиологической лаборатории ООО «Биокор», бифидобактерии из 2-х пробирок, вместе со средой культивирования, в которой они были с 2001 года, были посеяны в 1 бутылку со стерильным обезжиренным молоком (200мл) с ростовым фактором – лактопептоном. После инкубации бутылки с посевом (+37С°) на 3-и сутки в ней сформировался рыхлый молочный сгусток. Микроскопия из сгустка, с окраской метиленовым синим показала, что морфология клеток типична и характерна для бифидобактерий. После 5-го пассажа бифидобактерий на стерильном молоке с лактопептоном, формирование плотного сгустка происходило в сроки, сходные для штамма *B.bifidum* №791БАГ. Органолептические свойства кисломолочного сгустка были сходные для ЖКБ. Партия бутылок со сгустком была выдержана 2 мес. при (+8+10С°). Одну из бутылок передали 17.02.26 г. на микробиологический анализ в независимую лабораторию (ООО НПФ «Исследовательский центр»). Результаты испытаний: количество бифидобактерий - 1×10^6 КОЕ/г (см³), БГКП (колиформы) - не обнаружены, *S. aureus* – не обнаружены, Патогенные, в т.ч. сальмонеллы - не обнаружены, Дрожжи и плесени КОЕ/г (см³) - менее 10 в 1см³, (что является допустимым – не >10 в 1см³). Результат анализа экспериментального биопродукта,

проведенный по СТО 008-72244110-2018 характеризует его безопасность. Таким образом, было подтверждено, что это бифидобактерии и что они способны оставаться в естественном состоянии “спячки”, жизнеспособными 24 года хранения. Необходимо отметить, «экспериментальный образец» штамма *B.bifidum* №791БАГ не используется в производстве бифидопродуктов и находится на хранении у автора. Происшедшее заставило переосмыслить объяснение свойства штамма бифидобактерий *B.bifidum* №791БАГ, полученного путем селекции автором (Байбаковым В.И.) около 30 лет назад. [Байбаков В.И., 2000]. И привести к мнению, что объяснение повышенной сохранности (3 мес.) штамма в ЖКБ, за счёт образования кислотоустойчивой белковой оболочки клеток, скорее неверное. Новое осмысление обнаруженного свойства сверхдлительной сохранности бифидобактерий *B.bifidum* №791БАГ основывается на концепции молекулярного механизма гибернации бактерий. В свете парадигмы гибернации, первоначальное формирование механизма гибернации у бифидобактерий произошло при хранении 3 месяца в ЖКБ. Далее, по мнению автора, молекулярный механизм гибернации реализовался полностью, в другой жидкой среде роста-хранения при +10С°, течении 24 лет «спячки». Наиболее вероятными метаболическими активаторами белков гибернации, являются индолы [Хаова Е.А., 2022]. При анализе профиля потребления аминокислот при росте штамма *B.bifidum* №791БАГ, [Байбаков В.И., 2000], потребление триптофана бактериями из ростовой среды полностью отсутствовало, в отличие от других аминокислот, что косвенно свидетельствует об их способности к собственному синтезу триптофана. Образование индола зависит исключительно от количества экзогенного триптофана. Индолы не только факторы гибернации. В организме, обогащение в ЖКТ таксонов бактериями, способными продуцировать индол-3-лактат и другие индолы происходит компенсаторно, с целью подавления продукции провоспалительных цитокинов. Известно также, что индол-3-лактат участвует в индукции иммунорегуляторных Т-клеток. Бактерии *B.bifidum* №791БАГ, выдержавшие длительную гибернацию, могут быть источником новых полезных свойств. Генетические детерминанты гибернации из клеток *B.bifidum* №791БАГ, могут быть привнесены искусственно фагами в другие виды бифидобактерий. Наличие свойства многолетней гибернации у полезных пробиотиков имеет большое практическое значение. Помимо повышения резистентности бифидобактерий к антибиотикам, возможно создание хранилищ-банков бифидо- и аутобифидобиотиков ЖКТ, с использованием их ауто-донорами через 25-30 лет гибернации. Применяемая сегодня технология длительного хранения пробиотиков является дорогой. Лиофилизированные пробиотики могут храниться непрерывно в заморозке (-18-20С°), около 5 лет. Впервые обнаруженная нами способность бифидобактерий к гибернации десятки лет, в публикациях отсутствует.

Литература.

- Байбаков В.И., Молокеев А.В. и др., Патент РФ - №2000116319 от 26.07.2000г. Штамм бактерий *B.bifidum* №791БАГ, используемый для получения жидкого концентрата бифидобактерий, кисломолочных лечебно-диетических продуктов и БАДов".
- Хаова Е.А., Кашеварова Н.М., Ткаченко А.Г., Гибернация рибосом– молекулярная стратегия выживания бактерий (обзор), Прикладная биохимия и микробиология, 2022, т. 58, №3, с.211–231.
- Chinenye L., Ekemezie and Sergey V. Melnikov. Hibernating ribosomes as drug targets? Front. Microbiol., Mini Review, Published 29 July 2024г.

СТРУКТУРА И ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПООЛИГОСАХАРИДА ГЛУБОКОВОДНОЙ МОРСКОЙ БАКТЕРИИ *RHEINHEIMERA PACIFICA* КММ 1406^T

В.С. Белова, А.П. Фильштейн, А.С. Кузьмич, Л.А. Романенко, М.С. Кокоулин
ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН,
Владивосток, Россия, vladabelova306@gmail.com

Грамотрицательные бактерии представляют собой незаменимый компонент морских экосистем, характеризующийся высоким уровнем филогенетического разнообразия и выраженным адаптационным потенциалом к абиотическим факторам. Ключевым фактором, определяющим их устойчивость к внешним воздействиям, является особая организация клеточной стенки, центральное место в которой занимают липополисахариды (ЛПС). Данные высокомолекулярные амфифильные соединения выполняют функцию поддержания структурной целостности клетки и сохранения её гомеостатического равновесия. В структурном отношении ЛПС образован тремя ковалентно связанными доменами: липидом А, олигосахаридом кора и О-специфическим полисахаридом (ОПС). Полноразмерная молекула, включающая все три компонента (S-форма), доминирует у подавляющего большинства природных изолятов. Нарушение биосинтеза ОПС ведёт к формированию R-формы ЛПС, или липоолигосахарида (ЛОС). Структурная организация ЛПС, прежде всего особенности строения липида А и олигосахарида кора, имеет критическое значение для обеспечения целостности внешней мембраны, детерминирует её физико-химические параметры и поддерживает нормальное протекание физиологических процессов. Помимо барьерной функции, ЛПС активно задействованы в межвидовых взаимодействиях, опосредуя процессы колонизации, реализацию вирулентного потенциала патогенов и формирование симбиотических ассоциаций. Существенный практический интерес вызывает иммуномодулирующая активность данных макромолекул. Отдельные структурные варианты ЛПС функционируют как мощные агонисты рецепторов врождённого иммунитета млекопитающих, тогда как иные проявляют слабую агонистическую либо ярко выраженную антагонистическую активность. Экспериментально подтверждено, что спектр реализуемых иммунологических эффектов напрямую детерминирован тонкой структурой липида А — эндотоксического центра молекулы, а именно вариативностью состава ацильных цепей и характером модификаций фосфатных групп.

В данной работе представлены результаты структурного и иммунобиологического исследования ЛОС из морской грамотрицательной бактерии *Rheinheimera pacifica* КММ 1406^T, изолированной из образца воды, отобранного на глубине 5000 метров. Показано, что для ЛОС основными являются 3-гидрокситетрадекановая [14:0(3-ОН)], 3-гидроксидодекановая [12:0(3-ОН)] и додекановая (12:0) жирные кислоты, а липид А представляет собой смесь преимущественно пента- и тетраацилированных изоформ, несущих одну или две фосфатные группы в канонических положениях. С помощью метода матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с tandemной масс-спектрометрией (МАЛДИ МС/МС) было показано, что липид А с наивысшей степенью ацилирования представлен дифосфорилированной диаминогенциобиозой, ацилированной жирными кислотами 14:0(3-ОН), 14:0(3-О-12:0), 12:0(3-ОН) и 12:0(3-ОН) в положениях N-2, N-2' и O-3, O-3' соответственно. Тетраацилированная форма отличается от нее отсутствием 12:0(3-ОН) кислоты в положении O-3. Олигосахарид кора *R. pacifica* КММ 1406^T представляет собой тетрасахарид, построенный из двух остатков D-галактозы, остатка D-глюкозы и 3-дезоксид-манно-окт-2-улозоновой кислоты, фосфорилированной по положению O-4 (Рисунок 1).

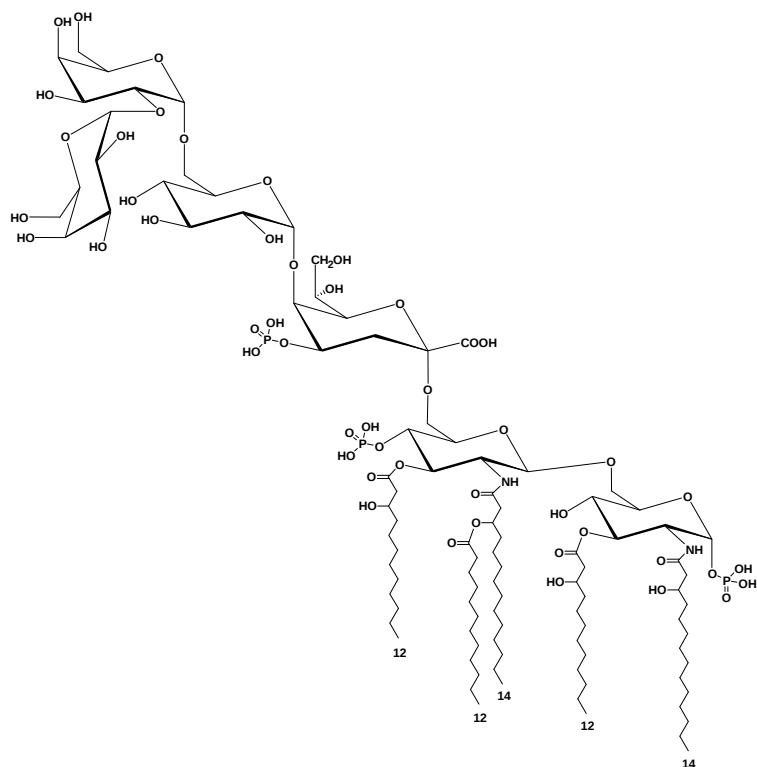


Рисунок 1 – Структура ЛОС морской грамотрицательной бактерии *R. pacifica* КММ 1406^T

На модели с использованием моноклеарных клеток периферической крови человека показано, что ЛОС является слабым индуктором провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-18, и проявляет выраженную антагонистическую активность в отношении действия классического агониста толл-подобного рецептора 4 (TLR4) – ЛПС *Escherichia coli*.

Таким образом, установленные структурные характеристики ЛОС *R. pacifica* КММ 1406^T — короткий, несущий отрицательный заряд олигосахарид кора и гипоацилированный липид А, — могут рассматриваться как ключевые адаптационные механизмы, обеспечивающие выживание бактерии в глубоководной среде. Отрицательно заряженный олигосахаридный фрагмент способствует интенсивному взаимодействию с двухвалентными катионами металлов, что придаёт внешней мембране дополнительную жёсткость и устойчивость, тогда как пониженная степень ацилирования липида А обеспечивает необходимую текучесть мембраны при низких температурах. Совокупность данных особенностей, по-видимому, лежит в основе способности морских грамотрицательных бактерий сохранять жизнеспособность в экстремальных условиях больших глубин.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 25-24-00401.

СОЗДАНИЕ ЛАБОРАТОРНОГО ФОНДА МИКОРИЗООБРАЗУЮЩИХ ГРИБОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Л.А. Беловежец¹, Н.В. Филинова¹, Д.С. Белоусов¹

1-Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук» (ИрИХ СО РАН), Иркутск, lyu-sya@yandex.ru

Восточная Сибирь является одним из крупнейших лесодобывающих регионов России. Ежегодно в Восточной Сибири заготавливается примерно 60 млн кубометров древесины. Кроме того, леса Сибирского региона страдают от пожаров. В среднем ежегодные потери деловой древесины находятся в пределах примерно 5–20% годового прироста, в зависимости от года (в «спокойные» годы ближе к нижней границе, в годы крупных пожаров/эпидемий — к верхней). В абсолютных числах это — от десятков до сотен миллионов м³ в год. Естественное лесовосстановление покрывает лишь небольшую часть потерь. Искусственное восстановление лесов регулируется приказом Минприроды России от 29 декабря 2021 г. №1024 и предполагает активное использование сеянцев с закрытой корневой системой. Однако данный метод имеет ряд недостатков, связанных с плохой приживаемостью сеянцев, их низкой конкурентоспособностью в естественных условиях. Решением данной проблемы может стать обработка семян или контейнерных субстратов грибами-микоризообразователями. Однако этот способ требует наличия большого количества мицелия данных грибов, выращенного в условиях чистой культуры. Это сопряжено с рядом трудностей, в числе которых сложности в выделении грибов, способных образовывать эктомикоризу, их промышленном культивировании. Целью данной работы было создание лабораторного фонда микоризообразующих грибов, произрастающих в Восточной Сибири.

На протяжении летних сезонов 2024-2025 годов нами было собрано более 50 плодовых тел различных грибов. Часть грибов была предварительно идентифицирована по макро-морфологическим признакам. Большая часть грибов относилась к родам *Suillus*, *Russula*, *Tricholoma* и *Lactarius*. Единичные образцы представлены родами *Armillaria*, *Cystoderma*, *Chroogomphus*, *Amanita*, *Hebeloma* и *Clitocybe*. Все они были высеяны на твердую питательную среду (сусло-агар, HiMedia, Индия) двумя способами: методом споровых отпечатков и методом прямого посева кусочка, выделенного из толщи плодового тела поверхностно-стерилизованного гриба. В чистую культуру было выделено 17 макромицетов. Для всех были подобраны оптимальные питательные среды и определена радиальная скорость роста на них. По результатам данного эксперимента оптимальной питательной средой признан картофельно-декстрозный агар. Исключение представлял штамм *Lactarius* 34, скорость роста которого была выше на питательной среде Melin-Norkrans. Все культуры были распределены на три группы: быстрорастущие (полная конфлюентность достигается на 5-7 сутки культивирования) — 5 штаммов, медленно растущие (1-15 суток) — 7 штаммов, и крайне медленно растущие (до 90 суток) — 5 штаммов. К сожалению, в пул очень медленно растущих попали представители рода *Suillus*. Варьирование питательных сред, в том числе и селективных для масленка, не привело к ускорению роста данных макромицетов. Подобное разделение по скорости роста и набора биомассы мы отмечали и на жидких питательных средах, среди которых оптимальной признала глюкозо-дрожжевая. Нами также определена скорость роста в зависимости от температуры культивирования. Для большинства штаммов оптимальной является температура 26 °C. Лишь штамм *Lactarius* 20 предпочитал температуру 20 °C, а *Russula* 27 - 30 °C.

Таким образом, нами создан лабораторный фонд микоризообразующих грибов Восточной Сибири, включающий в себя 17 культур базидиальных грибов, в основном представляющих порядок *Agaricales*. Среди данных штаммов выделены биотехнологически перспективные.

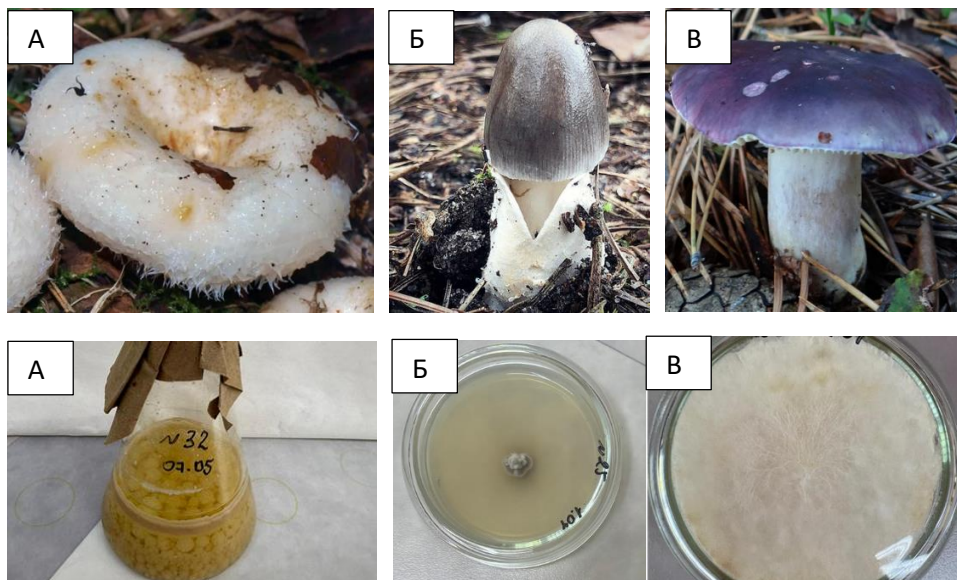


Рисунок. Внешний вид грибов. Верхний ряд – плодовые тела, нижний ряд чистые культуры.
А - *Lactarius* sp.; Б - *Amanita* sp.; В - *Russula* sp.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 25-26-00577
(<https://ias.rscf.ru/user/doc/a.w.p.2025.118.main/24826111>)

МАСШТАБИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИЦЕЛИЯ МИКОРИЗООБРАЗУЮЩИХ ГРИБОВ

Д.С. Белоусов¹, Н.В. Филинова¹, Л.А. Беловежец¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ ИрИХ СО РАН), г. Иркутск, belousov_off@mail.ru

Грибы-микоризообразователи, благодаря своему генетическому и функциональному разнообразию, играют важную роль в экосистемах и обладают значительным потенциалом для применения в биотехнологии. Ключевой проблемой при их промышленном культивировании является масштабирование процесса, требующее сохранения гидродинамической обстановки и условий массообмена при переходе от лабораторных колб к промышленным биореакторам [Serrano-Carreón, 2015]. В связи с этим возникает необходимость в соблюдении определенных условий аэрации, перемешивания, массообмена, поддержания оптимальных параметров по жизненно важным для микроорганизма факторам. Следовательно, требуется поэтапное масштабирование с применением математических методов моделирования и введением надежных критериев подобия для высокоэффективного и экономичного биосинтеза целевого продукта в промышленных условиях.

Целью данной работы являлась изучение возможности масштабирования процесса глубинного культивирования мицелия микоризообразующих грибов *Cortinarius caperatus* F-3121 и *Laccaria bicolor* F-3537.

Для исследования были взяты штаммы двух эффективных микоризообразователей, специализирующихся в основном на хвойных растениях: *C. caperatus* F-3121 и *L. bicolor* F-3537 (ВКМ, Россия). Данные грибов являются важнейшими и широко распространенными

симбионтами сосны, одной из основных хвойных пород используемой в лесовосстановлении.

Культивирование исследуемых грибов проводили в ферментере 30 л с рабочим объемом питательной среды 20 л. В качестве субстрата использовалась питательная среда следующего состава (г/л): глюкоза – 20; дрожжевой автолизат – 10, вода – остальное. Питательную среду инокулировали посевным материалом в количестве 10 % по объему. Ферментацию проводили в течение 7 суток при температуре 26 ± 1 °С, начальном pH 5,5-5,7. Накопление биомассы оценивали по абсолютно сухому весу гриба после высушивания при температуре 105 ± 1 °С.

Ранее разработанный и апробированный на пилотном и полупромышленном ферментёрах подход к глубинному культивированию дереворазрушающих базидиомицетов [Белоусов, 2026] был применён для культивирования микоризообразующих грибов *S. caperatus* F-3121 и *L. bicolor* F-3537. Ключевым элементом масштабирования являлось использование ступенчатого режима аэрации, позволяющего адаптировать подачу кислорода к физиологическому состоянию культуры. В период лаг-фазы расход воздуха поддерживали на уровне 0,3 л/(л×мин), что предотвращало избыточное пенообразование в начальный период. При переходе в экспоненциальную фазу роста интенсивность аэрации увеличивали до 0,5-1,0 л/(л×мин), а в стационарной фазе – до 1,0-1,5 л/(л×мин). Линейная скорость перемешивающего устройства во всех фазах культивирования составляла 0,3-0,5 м/с. Данный режим обеспечивал оптимальный массообмен и удовлетворял потребность мицелия в кислороде на протяжении всего процесса.

В этих условиях выход абсолютно сухой биомассы гриба для *L. bicolor* достигал 8,0-9,1 г/л, а для *S. caperatus* – 2,8-3,2 г/л, что сопоставимо с результатами, полученными при культивировании в колбах на меньших объемах питательной среды [Belousov, 2026].

Таким образом, полученные данные могут быть использованы для масштабирования процесса и разработки технологии промышленного получения грибной биомассы.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 25-26-00577.

Литература

Serrano-Carreón L., Galindo E., Rocha-Valadéz J.A., Holguín-Salas A., Corkidi G. Hydrodynamics, Fungal Physiology, and Morphology // Filaments in Bioprocesses / Eds. Krull R., Bley T. Cham : Springer International Publishing, 2015. – P. 55-90.

Белоусов Д.С., Филинова Н.В., Малков Ю.А., Беловежец Л.А. Биотехнологические подходы к культивированию некоторых дереворазрушающих грибов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2026. Т. 16. № 2. 11 с.

Belousov D.S., Filinova N.V., Belovezhets L.A., Malkov Y.A. Biotechnological parameters of cultivation of mycorrhizal fungi *Cortinarius caperatus* and *Laccaria bicolor* // Journal of Biotechnology. 2026. Vol. 414. P. 1-7.

АНАЛИЗ ГЕНОМА БАКТЕРИЙ *BACILLUS SUBTILIS* БИМ В-262 – ОСНОВЫ БИОПЕСТИЦИДА «ФРУТИН»

Д.В. Большакова¹, Н.В. Овчаренко¹, М.Н. Мандрик-Литвинкович¹, В.Н. Купцов¹,
Э.И. Коломиец¹

¹ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Минск, bolshakova.d96@gmail.com

Введение. Активное развитие методов молекулярно-генетических исследований и аннотация геномов биотехнологически значимых бактерий способствуют более глубокому

изучению перспективных бактериальных штаммов – продуцентов биологически активных соединений и являются основой раскрытия молекулярных механизмов их антимикробного и фитостимулирующего действия [Argentel-Martínez, 2024]. Нами разработан микробный препарат «Фрутин», активно использующийся для защиты и стимуляции развития плодовых деревьев, клубнелуковичных и луковичных цветочных культур, лиственных и хвойных пород, включая микроклоны осины и березы. Основой препарата является штамм спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* БИМ В-262 с полифункциональными свойствами. Для расшифровки механизмов действия и направленного регулирования активности указанного штамма несомненный интерес представляет изучение его генома, что и явилось целью настоящей работы.

Материалы и методы. Выделение геномной ДНК осуществляли с помощью набора «Нуклеосорб С» (ОДО «Праймтех»). Высокопроизводительное секвенирование проводили на приборе DNBSEQ-G99 (MGI Tech Co., Ltd.) в режиме парных прочтений с использованием комплекта реактивов DNBSEQ-G99RS High-throughput Sequencing Set G99 App-D FCL PE300. Сборку контигов проводили с помощью программы Unicycser v.0.5.1. Затем полученные контиги объединяли в скафолд на основе опубликованных данных о геномах близкородственных бацилл из базы данных Ген-Банк с использованием RagTag v.2.1.0. Для заполнения пропусков в полученном скафолде применяли Gap2Seq v.3.1 и GapCloser v.1.12. Предварительную аннотацию геномов проводили через PROKKA v.1.15.6 и онлайн-сервис RAST [Overbeek, 2014], поиск профаговых последовательностей с использованием PHASTEST v.3.0, инсерционных элементов – ISEScan Galaxy v.1.7.3, антимикробных метаболитов – antiSMASH v.8.0.4, мобильных генетических элементов – ICEfinder v3.0, системы рестрикции-модификации – DefenseFinder Galaxy v.1.7.3.

Результаты и обсуждение. Геном бактерий *B. subtilis* БИМ В-262 представлен одной кольцевой хромосомой размером 3 994 776 п.н., содержащей 43,73% Г/Ц-пар. В состав хромосомы входит 4 156 открытых рамок считывания, способных определять синтез полипептидов, а также молекул рРНК и тРНК.

Анализ генома *B. subtilis* БИМ В-262 выявил наличие генетических локусов, ассоциированных с синтезом антимикробных пептидов, включая субтиломицин (6 генов), субтилозин А (8 генов) и бацилизин (6 генов), а также липопептидов – сурфактина (12 генов) и фенгицина (5 генов). Кроме того, обнаружены генетические детерминанты, участвующие в синтезе метаболитов, связанных с конкурентным захватом железа, таких как бациллибактин (5 генов), пульхерриминовая кислота (6 генов) и терпеновых соединений. Наличие гибридного кластера типа NRPS/PKS (14 генов), гомологичного бациллену, дополнительно подтверждает потенциальную способность штамма синтезировать поликетидные антибиотические соединения. Сравнительный анализ промоторов, регуляторных и структурных генов, а также кодируемых ими полипептидов, определяющих синтез вышеуказанных соединений, выявил их идентичность на уровне 98–99 % гомологичным последовательностям других представителей *B. subtilis* [по данным BLASTn, NCBI].

Показано, что вклад в метаболический потенциал штамма *B. subtilis* БИМ В-262 вносят генетические детерминанты, связанные с обменом аминокислот (281 генов), углеводов (242 генов) и белков (178 генов), а также с синтезом кофакторов, витаминов и пигментов (145 генов), что свидетельствует о высоком метаболическом и адаптационном потенциале штамма, включая его способность к синтезу биологически активных соединений, участвующих в реализации ростостимулирующего действия бактерий. Наличие генов, связанных с мембранным транспортом (43 гена), подвижностью и хемотаксисом (45 генов), отражает потенциал бактерий к активной колонизации среды и взаимодействию с растениями. Стоит отметить, что генетические детерминанты, отвечающие за метаболизм азота, фосфора, ароматических соединений, серы и калия менее выражены (<1%). При этом обнаружено значительное количество гипотетических белков (~35%), функции которых не удалось идентифицировать, что может свидетельствовать о

наличии большого числа недостаточно изученных генетических детерминант, потенциально связанных как с адаптивными механизмами, так и с синтезом биологически активных соединений, представляющих интерес для дальнейших исследований.

Анализ хромосомной ДНК бактерии *B. subtilis* БИМ В-262 позволил выявить по 1 копии двух вариантов инсерционных элементов семейства IS21 (IS21288 и IS21259 размером 1410 п.н. и 1766 п.н. соответственно), отмеченных как неполные. Помимо IS-элементов в геноме обнаружен интактный профаг (34 976 п.н.), предположительно относящийся к *Brevibacillus phage Jimmer2* NC_041976 [по данным BLASTn, NCBI]. Последовательность встроенного фага содержит 44,78 % Г/Ц-пар, что практически соответствует геному хозяина и отдельные участки его генома встречаются в хромосомах представителей бактерий *Bacillus subtilis* [по данным BLASTn, NCBI]. Следует отметить, что в хромосомах большинства бактерий присутствуют профаги, способные обеспечивать защиту от заражения родственными фагами. Присутствие мобильных элементов у исследуемого штамма может указывать на эффективность систем, препятствующих проникновению чужеродных нуклеиновых кислот [Титок, 2018]. Защитный механизм представлен двумя типами системы рестрикции-модификации (4 и 2G), а также системами Gsu233 и обратной транскриптазы (DRT_2).

Выводы. Таким образом, в результате проведенного исследования установлена общая организация генома бактерий *B. subtilis* БИМ В-262, определены ключевые генетические локусы, детерминирующие синтез антимикробных метаболитов, охарактеризованы мобильные генетические элементы и системы защиты. Выявленные особенности организации и локализации отдельных генетических детерминант могут использоваться в качестве надежных молекулярно-генетических маркеров для быстрой идентификации штамма при его коммерческом использовании. Наличие полной нуклеотидной последовательности генома может служить основой для детального функционального анализа практически значимых свойств и направленного регулирования активности исследуемой культуры.

Литература

Biotechnological advances in plant growth-promoting rhizobacteria for sustainable agriculture / Argente-Martínez L. [et al] // World J Microbiol Biotechnol. 2024. Vol. 41, № 1. doi: 10.1007/s11274-024-04231-4.

Титок М.А. Анализ генома бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-439Д / М. А. Титок [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 5. – С. 592–600.

National Library of Medicine: Standard Nucleotide BLAST. – URL: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome (дата обращения 28.04.2026)

Overbeek R. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). / R. Overbeek [et al] // Nucleic Acids Res. 2014. doi: 10.1093/nar/gkt1226. PMID: 24293654; PMCID: PMC3965101.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ПОЧВЕННОГО МИКРОБИОМА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ КОМПЛЕКСНОГО МИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА «БИОПРОДУКТИН»

Д.В. Большакова, Е.Ю. Шмыга, М.Н. Мандрик-Литвинкович, Э.И. Коломиец
Государственное научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь, bolshakova.d96@gmail.com

Введение. Одной из основных задач сельскохозяйственной биотехнологии в наши дни является повышение продуктивности и устойчивости агроэкосистемы, что во многом связано с сохранением плодородия почвы. Используемые агротехнические приемы при выращивании сельскохозяйственных культур оказывают существенное влияние на фитосанитарное состояние посевов, биологическую активность почвы и формирование агробиоценоза в целом.

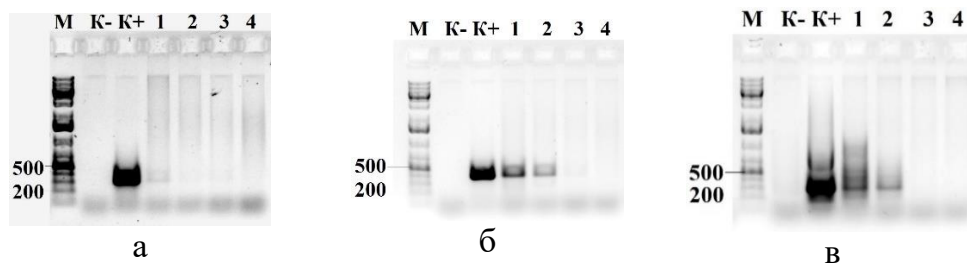
Так, постоянное внесение минеральных удобрений способствует подкислению и дегумификации почвы, ускорению вымывания кальция, магния из пахотного слоя, а применение высоких доз азотных удобрений – накоплению нитратного азота в почве в количествах, превышающих ПДК (130 мг NO₃/кг) [Марьина-Чермных, 2002]. Содержание в удобрениях тяжелых металлов может приводить к накоплению их избыточных количеств в почве, что губительно действует на ее ферментативную активность. В тоже время активизация факторов формирования урожая возможна за счет использования свойств и возможностей биологического потенциала микроорганизмов [Петюренко, 2017]. В частности, применение микробных препаратов комплексного действия может обеспечить контроль возбудителей болезней растений, оздоровление микробиоценозов и повышение биологической активности почвы.

Таким образом, целью настоящей работы являлась оценка влияния комплексного микробного препарата «Биопродуктин» на почвенный микробиоценоз в модельных опытах.

Материалы и методы. Модельный опыт осуществляли в грунтовой теплице (18,0 м²) после длительного выращивания культуры томата без внесения органических удобрений. Обработку почвы проводили комплексным микробным препаратом «Биопродуктин» с высокой антимикробной, целлюлолитической, азотфиксирующей и фосфатмобилизирующей активностями, норма расхода – 4 л/га двукратно с интервалом 1 месяц, контроль – почва без обработки, продолжительность опыта – 90 суток. Отбор опытных и контрольных проб для исследования почвенного микробиоценоза осуществляли через каждые 30 суток. Выделение геномной ДНК осуществляли с помощью набора «Нуклеосорб С» (ОДО «Праймтех»). Определение в образцах почвы грибных и бактериальных патогенов, поражающих основные сельскохозяйственные культуры, осуществляли в соответствии с разработанным определителем возбудителей болезней сельскохозяйственных культур [Коломиец, 2018], а бактерий рода *Azotobacter*, индикаторов почвенного плодородия, – с помощью родоспецифичных праймеров [Налбандян, 2009].

Результаты и обсуждение. Микробиологический анализ образцов почвы перед внесением микробного препарата «Биопродуктин» показал, что почва характеризовалась низкой численностью ключевых эколого-трофических групп микроорганизмов (аммонификаторов, микромицетов, олигонитрофилов и микроорганизмов, утилизирующих минеральный азот) – $1,4 \cdot 10^4$ – $5,7 \cdot 10^5$ КОЕ/г а.с.п. Согласно принятой шкале оценки [Звягинцев, 1978], исследуемая почва классифицирована как «очень бедная», что указывает на снижение ее способности к самовосстановлению и поддержанию оптимального уровня плодородия. Кроме того, в почве отсутствовали индикаторные бактерии *Azotobacter* sp., что может указывать на низкое плодородие, а также выявлены фитопатогенные микроорганизмы – *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. (в том числе *Fusarium oxysporum*), *Cladosporium cladosporioides* и *Pseudomonas syringae* – возбудители болезней растений.

Через три месяца после внесения микробного препарата отмечено увеличение численности ключевых эколого-трофических групп микроорганизмов до $6,0 \cdot 10^5$ – $4,1 \cdot 10^7$ КОЕ/г а.с.п., тогда как в контрольном варианте данный показатель составлял $9,0 \cdot 10^3$ – $4,2 \cdot 10^5$ КОЕ/г а.с.п. По результатам ПЦР-диагностики и микробиологического анализа показано снижение количества фитопатогенных грибов *Fusarium* sp. и *C. cladosporioides*, а фитопатогенных бактерий *Ps. syringae* не было выявлено (рис. 1). В опытном варианте отмечено наличие индикаторных бактерий *Azotobacter* sp.



а – *Fusarium* sp., б – *C. cladosporioides*, в – *P. syringae*, К- – отрицательный контроль (ПЦР-смесь без ДНК), К+ – положительный контроль (*F. graminearum* БИМ F-601, *C. cladosporioides* БИМ F-593, *P. syringae* БИМ В-266), М – ДНК маркер молекулярного веса, М 1 Kb Plus «Thermo Scientific™», 1-2 – контрольный образец ДНК почвы, 3-4 – опытный образец ДНК почвы

Рисунок 1 – Электрофореграмма ПЦР-анализа почвы

Выводы. Внесение в почву комплексного микробного препарата «Биопродуктин», основу которого составляют штаммы бактерий с комплексной биологической активностью, обеспечивает оздоровление микробоценоза и повышение биологической активности почвы.

Литература

Звягинцев Д. Г. Биологическая активность почв и шкалы для оценки некоторых её показателей // Почвоведение. – 1978. – № 6. – С. 48–54.

Налбандян А. А., Безлер Н. В., Черепухина И. В. ПЦР-идентификация гена азотфиксации *nifH* у *Azotobacter* sp. // Технология высоких урожаев. – 2009. – № 9. – С. 7–9.

Марьина-Чермных, О. Г. Влияние удобрений и средств защиты на формирование фитосанитарного состояния и урожайность яровой пшеницы / О. Г. Марьина-Чермных // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства : Мосоловские чтения : материалы регион. науч.-практ. конф., Йошкар-Ола, 2002 г. / Марийс. гос. ун-т ; редкол.: Г. С. Марьин (отв. ред.) [и др.]. – Йошкар-Ола, 2002. – Вып. 4. – С. 179–183.

Определитель грибных и бактериальных возбудителей болезней сельскохозяйственных культур (огурца и томата) на основе ДНК-типирования / Э.И. Коломиец, М.А. Титок [и др.]. – Минск, 2018. – 64 С.

Петюренко, М. Ю. Влияние внесения бактерий рода *Pseudomonas* в агроценоз сахарной свёклы на фотосинтетическую активность и продуктивность культуры / М. Ю. Петюренко, Н. В. Безлер // Сахар. – 2017. – № 5. – С. 20–23.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПОЛИСАХАРИД-ДЕГРАДИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ МОРСКИХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БУРОЙ ВОДОРОСЛИ *FUCUS* *EVANESCENS* (Б. КРАТЕРНАЯ, О. ЯНКИЧА)

Ю.А. Бронникова¹, А.С. Сильченко¹, О.И. Недашковская¹, М.П. Исаева¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт
биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток,
molonova.yulya@gmail.com

Изучение бактериальных сообществ, ассоциированных с бурой водорослью *Fucus evanescens*, является актуальным для поиска новых источников высокоспецифичных ферментов гидролиза полианионных полисахаридов. Целью работы являлось оживление, идентификация и тестирование морских бактерий, выделенных из образцов бурой водоросли *F. evanescens* собранной в бухте Кратерная (о-в Янкича, Курильские острова) во время рейса №36 НИС «Академик Опарин». Всего в исследование было взято 45 бактериальных культур. Определение таксономической принадлежности культур проводилось на основе секвенирования гена 16S рРНК с помощью генетического анализатора ABI PRISM 3130xL (Applied Biosystems, США) и BLAST-анализа с использованием платформ GenBank NCBI и EzBioCloud. На основе результатов 16S рРНК-генотипирования, штаммы были отнесены к следующим родам: *Yeosuana*, *Cellulophaga*, *Pseudooceanicola*, *Thioclava*, *Algoriphagus*, *Pseudoalteromonas*, *Algibacter*, *Pseudooceanicola* и *Salinibacterium*. Процент идентичности последовательностей гена 16S рРНК между исследуемыми штаммами и ближайшими типовыми штаммами составил 96,6–100%.

Тестирование полисахарид-деградирующей активности проводилось методом электрофореза в полиакриламидном геле с использованием субстратов, выделенных из бурых водорослей *F. evanescens* (FeF), *Saccharina cichorioides* (ScF) и *Undaria pinnatifida* (UpF), зеленой водоросли *Ulva lactuca*, а также коммерческих препаратов альгината и λ -каррагинана. По результатам скрининга было установлено, что 20 штаммов обладают способностью деградировать альгинат – ключевой структурный полисахарид бурых водорослей. Деполимеризующая активность в отношении фукоиданов встречалась значительно реже: у 4 штаммов на субстрате FeF и у 2 штаммов на субстрате ScF. Штамм 36-FBC 27 был единственным, способным к деградации фукоиданов обоих типов FeF и ScF. Каррагиназную активность продемонстрировали 9 штаммов. Ульваназная активность была установлена у одного штамма — 36-FBC 55, для которого также была показана способность разлагать λ -каррагинан и альгинат. Активность в отношении галактофукана (UpF) была обнаружена только у штамма 36-FBC 12.

Таким образом, полученные данные указывают на возможность использования штаммов морских бактерий, ассоциированных с бурой водорослью *Fucus evanescens*, в качестве продуцентов полисахарид-деградирующих ферментов.

Исследование поддержано Грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 15.БПК.25.14 (Соглашение № 075–15-2025-467)

ПОТЕНЦИАЛ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АНТИФУНГАЛЬНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПСЕВДОМОНАД В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

**З.Р. Вершинина^{1,2}, О.В. Чубукова^{1,2}, Л.Р. Хакимова^{1,2}, А.М. Лавина¹,
А.Ш. Бигалеева¹**

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа,
zilyaver@mail.ru

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Уфимский государственный нефтяной технический университет», Уфа,
zilyaver@mail.ru

Одними из псевдомонад, способными подавлять заболевания растений, вызываемые различными почвенными фитопатогенными грибами, являются штаммы подгруппы *Pseudomonas chlororaphis*. Предыдущие исследования показали, что эти ризобактерии продуцирует ряд противогрибковых соединений, в том числе 2-гексил-5-пропилрезорцин (HPR). В качестве объектов исследования в данной работе были использованы типовой штамм бактерий *Pseudomonas chlororaphis* В-9444, полученный из Коллекции микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии РАСХН (С.-Петербург) и штамм *Pseudomonas chlororaphis* ИБ 51 («Елена») из коллекции Уфимского Института биологии УФИЦ РАН.

Для модуляции фунгистатической активности были выбраны 2 гена, участвующих в синтезе HPR: *darA* и *darB* из генома *Pseudomonas chlororaphis* В-9444, которые ранее были проклонированы в вектор pJN105 под контролем конститутивного промотора T5 [Verшинина et al., 2024]. Полученными генно-инженерными конструкциями были трансформированы компетентные клетки изучаемых штаммов *P. chlororaphis*. Было показано, что трансформированные генами *darA* и *darB* штаммы *P. chlororaphis* ВКПМ В-9444 эффективнее ингибируют рост грибов на твердой среде по сравнению с исходным

штаммом. Наиболее выраженный эффект наблюдался для гриба *Alternaria alternata*, где уровни ингибирования для штаммов, трансформированных генами *darA* и *darB*, составили 78% и 85% соответственно. Далее по степени подавления следовали *Fusarium culmorum* (71% и 74%), *Bipolaris sorokiniana* (70% и 69%) и *Microdochium nivale* (64% и 68%). Наименьший уровень ингибирования зафиксирован для *Fusarium graminearum* (55% и 51%). Трансформация штамма *P. chlororaphis* ИБ 51 генами *darA* и *darB* не оказала существенного влияния на фунгистатические свойства бактерий в условиях эксперимента, поскольку уровни подавления роста грибов варьировались незначительно между исходным и трансформированными вариантами. Известно, что фунгистатическая эффективность *P. chlororaphis* ИБ 51 обусловлена производством широкого ряда антибиотических веществ, в том числе феназинов и сидерофоров. Вероятно, что вклад HPR в ингибирование роста грибов незначителен, поэтому трансформирование штамма *P. chlororaphis* ИБ 51 генами *darA* и *darB* не вызывает эффект, подобный наблюдаемому на штамме *P. chlororaphis* ВКПМ В-9444.

Фунгистатические агенты приводят к изменению или разрушению грибного мицелия. Псевдомонады, выделяя антибиотики, в том числе HPR, способны нарушать структуру и функцию клеточной мембраны грибов, что приводит к утечке цитоплазмы и, как следствие, повреждению или полной гибели клеток. Также некоторые антибиотики способны ингибировать ферменты, которые участвуют в синтезе хитина, глюканов и других компонентов, что может приводить к образованию дефектной или ослабленной клеточной стенки. Чтобы проверить антифунгальную активность исходных и трансформированных штаммов бактерий было проведено микроскопическое исследование воздействия псевдомонад на грибной мицелий. В качестве тест-штамма использовали гриб *B. sorokiniana*, вызывающий корневую гниль у злаков. На рисунке 1А представлен снимок грибного мицелия в отсутствии бактериального штамма. Мицелий демонстрирует густую, хорошо развитую структуру, с четкими, неповрежденными гифами, здоровыми и крепкими, без признаков разрушения или деградации. Общая структура мицелия не повреждена, что свидетельствует о его нормальном росте и развитии в отсутствии ингибирующих факторов. На рисунке 1Б изображен мицелий, на которых воздействует штамм *P. chlororaphis* ВКПМ В-9444, но степень повреждения относительно невелика. Гифы выглядят чуть тоньше, чем на рисунке 1А, наблюдаются изменения в их морфологии. На рисунке 1В и 1Г на гриб воздействуют штаммы, трансформированные генами *darA* и *darB*, соответственно. На изображениях мицелий демонстрирует значительные повреждения, вызванные воздействием бактерий - гифы сильно истончены, фрагментированы, наблюдается лизис клеток. Большие участки гиф выглядят размытыми или пустыми из-за разрушения клеточного содержимого. Трансформация штамма *P. chlororaphis* ИБ 51 генами *darA* и *darB* не оказала существенного влияния на состояние грибного мицелия в условиях эксперимента — как исходный, так и трансформированные штаммы вызвали сильные повреждения клеток грибов. Это подтверждает факт, что в случае штамма *P. chlororaphis* ИБ 51 вклад алкилрезорцинов в ингибирование роста грибов незначителен.

Стоит отметить, что применение алкилрезорцинов перспективно не только против фитопатогенных грибов, но и широкого ряда других про- и эукариотических патогенных микроорганизмов. Например, было обнаружено, что применение 4-гексилрезорцина в качестве адъюванта к полимиксину является высокоэффективным против прорастания бактериальных спор и для предотвращения формирования устойчивых к антибиотикам персистирующих клеток [Zabolotneva et al., 2022].

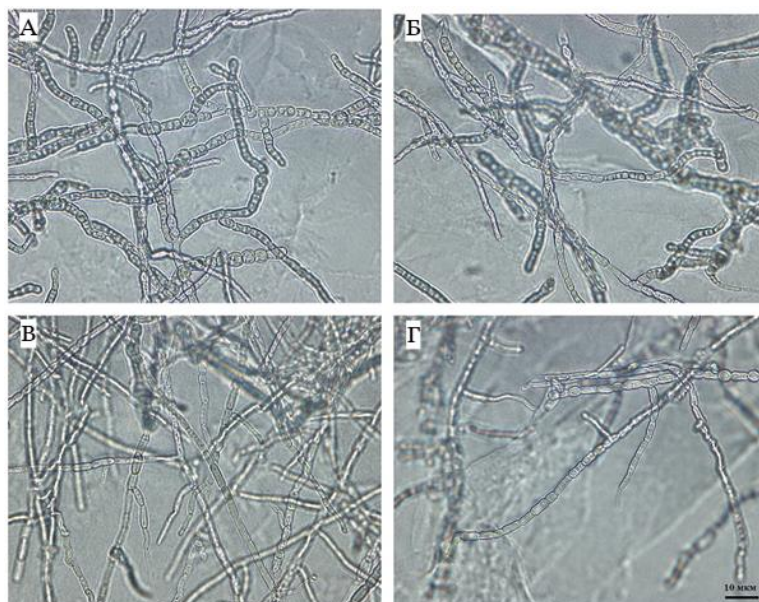


Рисунок 1 – Микроскопирование мицелия *B. sorokiniana* в присутствии штамма *P. chlororaphis* ВКПМ В-9444

Литература

Vershinina Z.R., Khakimova L.R., Bigaleeva A.Sh., Chubukova O.V., Matniyazov R.T. *Pseudomonas* Strains Producing 2-Hexyl-5-Propylresorcinol as Biocontrol Agents against Fungal Phytopathogens // Microbiology. 2024. V. 93. P. 140-143.

Zabolotneva A.A., Shatova O.P., Sadova A.A., Shestopalov A.V., Roumiantsev S.A. An Overview of Alkylresorcinols Biological Properties and Effects // J Nutr Metab. – 2022. – P. 4667607.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТВОРА, ПОЛУЧЕННОГО ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ ШЕЛУХИ ОВСА, НА БИОСИНТЕЗ БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Е.К. Гладышева

Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения
Российской академии наук, г. Бийск, evg-gladysheva@yandex.ru

Бактериальная целлюлоза (БЦ) в настоящее время считается перспективным биоматериалом из-за ее специфической структуры и свойств. По сравнению с растительной целлюлозой, нанофибриллярная сеть БНЦ обладает свойствами, такими как высокая водоудерживающая способность, высокая степень полимеризации, высокая кристалличность, высокая чистота, хорошая биосовместимость и отличные механические свойства [Bulkina, Prilepskii, 2025]. Для снижения себестоимости производства БНЦ питательные среды из лигноцеллюлозы обладают значительным потенциалом в качестве альтернативного экономически эффективного сырья. Эффективное использование лигноцеллюлозной биомассы требует ферментативного осахаривания для получения сахаров. Однако жесткая связь между целлюлозой, гемицеллюлозой и лигнином приводит к низкой доступности целлюлозы для ферментов и препятствует эффективному превращению, что подчеркивает необходимость предварительной обработки для разрушения жесткой кристаллической структуры и повышения выхода сахаров [Kim, 2021]. Хорошо известно, что лигноцеллюлозные гидролизаты содержат ингибиторы ферментации, которые образуются во время предварительной обработки [Guo, 2013]. Известно, что при предварительной обработке сырья разбавленной кислотой возможно

образование водорастворимого лигнина, который в концентрациях $0,019 \pm 0,001$ мас. % может ингибировать ферментативный гидролиз [Skiba, 2017].

Целью работы являлось исследовать влияние остаточных концентраций отработанных растворов, полученных в результате химической предобработки шелухи овса, на биосинтез БНЦ. Ранее было установлено, что остаточные концентрации отработанного растворов не оказывают влияние на реакционную способность ферментативного гидролиза [Гладышева, Кащеева, 2025].

Шелуху овса подвергли предобработке с помощью разбавленного раствора азотной кислоты при атмосферном давлении. Процесс проводился в лабораторных условиях, один раствор использован шестикратно для предобработки новых порций шелухи овса. Отработанный раствор представлял собой жидкость коричневого цвета, с содержанием сухих веществ – 4,7 %, редуцирующих сахаров – 31,4 г/л, из них глюкозы – 9,4 г/л. Отработанный раствор добавлялся в концентрации от 0,001 % до 1,0 % к синтетической глюкозной питательной среде. Контролем служила питательная среда без добавления отработанного раствора шелухи овса.

Продуцентом БНЦ являлась SCOBY – микробный консорциум дрожжей и уксуснокислых бактерий, который в процессе биосинтеза работает синергически. Дрожжи метаболизируют источники углерода, такие как сахароза, глюкоза и фруктоза, для производства этанола, который затем окисляется ААВ до уксусной кислоты, тем самым активируя механизм целлюлозосинтазы [Meng, 2025]. Для биосинтеза БНЦ использовалась традиционная среда с полифенолами чёрного чая, содержание глюкозы в среде составило 20 г/л. Подробно методология представлена в работе [Kashcheyeva, 2023].

Из таблицы, следует, что биосинтез БНЦ наблюдался на всех питательных средах, за исключением питательной среды с концентрацией отработанного раствора 1,0 %. Анализ данных свидетельствует о снижении количества клеток микроорганизмов в питательных средах при концентрациях 0,1-1,0 %, по сравнению с контролем. Измерение pH в процессе биосинтеза БНЦ показывает снижение уровня кислотности питательных сред, содержащих 0,01-0,001 % отработанного раствора. Это свидетельствует о повышенной активности микроорганизмов и хорошо согласуется с данными о численности уксуснокислых бактерий. Выход БНЦ полученный на питательных средах, с концентрацией отработанного раствора 0,01-0,001 % был сопоставим с выходом на контрольной питательной среде. Выход БНЦ на питательной среде с концентрацией отработанного раствора 0,01 % был ниже в 4,8 раза по сравнению с контролем. Отработанный раствор шелухи овса в концентрациях 0,01-0,1 % оказывает ингибирующий эффект на биосинтеза БНЦ, несмотря на высокую конверсию глюкозы (95,0 %). Таким образом разрушаются синергетические связи микробного консорциума дрожжей и уксуснокислых бактерий, что приводит к отсутствию БНЦ.

Таблица. Показатели биосинтеза БНЦ в зависимости от концентрации отработанного раствора шелухи овса

Питательная среда	Количество		pH	Конверсия глюкозы, %	Выход БЦ (в пересчете на РВ), %
	Дрожжей КОЕ/мл	У/6* КОЕ/мл			
Контроль	45,0*10 ⁶	8,5*10 ⁶	3,1	88,0	6,3
Концентрация					
1,0	10,0*10 ⁶	0,8*10 ⁶	3,4	95,0	-
0,1	13,0*10 ⁶	3,0*10 ⁶	3,3	95,0	1,3
0,01	25,0*10 ⁶	6,5*10 ⁶	3,1	87,0	6,8
0,001	26,0*10 ⁶	7,0*10 ⁶	3,1	89,0	6,6

Методом растровой электронной микроскопии было установлено, что образцы БНЦ, полученные при различной концентрации отработанного раствора имели сетчатую структуру и соответствовали образцу БНЦ, полученному на синтетической питательной среде.

Работа выполнена при использовании оборудования Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск) и Минобрнауки в рамках госзадания ИПХЭТ СО РАН (код научной темы FUFЕ-2024-0008, регистрационный номер 124021200031-4).

Литература

Bulkina A., Prilepskii A. Bacterial cellulose: Is it really a promising biomedical material? // Carbohydrate Polymers. 2025. Vol. 357. P. 123427.

Guo X., Cavka A., Jönsson L.J., Hong, F. Comparison of methods for detoxification of spruce hydrolysate for bacterial cellulose production // Microbial Cell Factories. 2013. Vol. 12(1). P. 93.

Kashcheyeva E.I., Korchagina A.A., Gismatulina Y.A., Gladysheva E.K., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Simultaneous production of cellulose nitrates and bacterial cellulose from lignocellulose of energy crop // Polymers. 2023. Vol. 16(1). P. 42.

Kim H., Son J., Lee J., Yoo H.Y., Lee T., Jang M., Oh J.-M., Park C. Improved production of bacterial cellulose through investigation of effects of inhibitory compounds from lignocellulosic hydrolysates // GCB Bioenergy. 2021. Vol. 13(3). P. 436-444.

Meng Q., Jiang Y., Rogiewicz A., Hu J. A sustainable strategy for biosynthesis of bacterial cellulose using a microbial symbiotic culture from hemp (*Cannabis sativa* L.) waste hydrolysate // Industrial Crops and Products. 2025. Vol. 234. P. 121509.

Skiba E.A., Budaeva V.V., Baibakova O.V., Zolotukhin V.N., Sakovich G.V. Dilute nitric-acid pretreatment of oat hulls for ethanol production // Biochemical Engineering Journal. 2017. Vol. 126. P. 118-125.

Гладышева Е.К., Кашеева Е.И. Исследование влияния ингибирующих веществ на ферментативный гидролиз шелухи овса. In Альтернативные источники сырья и топлива: тез. А58 докл. X Междунар. науч.-техн. конф. «АИСТ-2025». Минск, 21-23 октября 2025 г. Минск: АН Вараксин, 2025–124 с. С. 102.

ВИРУЛИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ПОЧВЕННЫХ АКТИНОБАКТЕРИЙ АРИДНОЙ ЗОНЫ

Л.Н. Григорян¹, Ю.В. Батаева²

¹ФГБОУ ВО Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева, Астрахань, lilyagrigoryan90@mail.ru

²ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева, Москва, aveatab@mail.ru

К перспективным экологически безопасным агентам, применяемым для защиты растений от биотических и абиотических стрессов, относятся биопрепараты на основе актинобактерий [Григорян и др., 2025]. Большой интерес, в связи с этим, вызывают почвенные стрептомицеты, для которых характерен широкий спектр биологической активности, включая фиторегуляторную. В качестве агентов биоконтроля, бактерии рода *Streptomyces* отличает высокая колонизирующая способность, устойчивость спор к излучениям и высушиванию, временному отсутствию питательных веществ, стрессовым экологическим факторам.

Актинобактерии способны оказывать антагонистическую активность в отношении возбудителей вирусных болезней растений, которые снижают урожайность

сельскохозяйственных культур, что особенно проявляется в южных регионах земледелия, где создается один из самых высоких инфекционных фонов [Батаева и др., 2024].

Вирусная инфекция усиливает предрасположенность растений к воздействию бактериальных и грибных возбудителей растений [Gaber et al., 2020]. Несвоевременное решение возникшей фитосанитарной проблемы приводит к кратному увеличению пестицидной нагрузки на полевые биоценозы, снижению урожайности, вплоть до экономической нецелесообразности возделывания культуры [Marzieh et al., 2022].

Часто механизм противомикробной и инсектицидной активности стрептомицетов обусловлен синтезом сразу нескольких метаболитов, что затрудняет формирование устойчивости в популяциях фитопатогенов [Bataeva et al., 2025]. Полифункциональные свойства актинобактерий обеспечивают повышенную эффективность процесса восстановления почвенных экосистем, например, после загрязнения пестицидами.

Экспериментальные исследования выполнены на базе демонстрационного участка филиала ФГБУ «Российский сельскохозяйственный центр» по Астраханской области. Способы обработок состояли из пролива под корень (первая обработка) и опрыскивания (вторая и третья обработки) из расчета 10 мл на 1 растение и заключались в следующем: 1) пролив под корень после посадки рассады в открытый грунт в фазу активного роста растений; 2) опрыскивание в фазу цветения и бутонизации; 3) опрыскивание в фазу образования завязи и молочной спелости. Схема опыта включала 8 вариантов: отрицательный контроль (обработка водопроводной водой); положительный контроль (для оценки вирулицидной активности - обработка препаратом Фармайод, ГР); вариант с обработкой суспензией семисуточной культуры штамма; пять вариантов с обработкой экстрактами штамма.

Установлена биологическая эффективность штамма *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 для снижения вредоносности фитовирусов на томатах в открытом грунте Астраханской области. Штамм RCAM04697 выделен из бурых полупустынных почв Астраханской области.

Вирулицидная активность экстрактов штамма RCAM04697 во всех вариантах опыта оказалась ниже значений положительного контроля Фармайода. Возможно, это связано с тем, что в составе экстрактов разнообразие метаболитов, оказывающих противовирусное действие, намного меньше, чем в суспензии. Метанольные экстракты не предотвращали развития вирусной симптоматики у растений томата, их вирулицидная активность на 14 сутки после третьей обработки составила 14,8%. Биологическая эффективность в отношении фитовирусов в остальных вариантах опыта варьировала от 25,0% при обработке водно-спиртовым (80:20) до 62,7% при обработке гексановым экстрактами RCAM04697.

Полевые испытания показали, что крайняя обработка растений томатов суспензией семисуточной культуры штамма RCAM04697 оказала высокую вирулицидную активность и составила 75,3%.

Таким образом, бактеризация томатов открытого грунта суспензией исследуемого штамма выявила наибольшую биологическую эффективность с показателем урожайности 210,7 кг, что в 2,9 раз больше значения урожайности в отрицательном контроле. Полученные результаты указывают на значительный потенциал штамма RCAM04697 в производстве биопрепаратов для защиты томатов открытого грунта с вирулицидными свойствами.

Литература

Григорян Л.Н., Упадышев М.Т., Батаева А.Д., Батаева Ю.В. Использование стрептомицетов для биоконтроля вредителей и снижения вредоносности вирусов на томатах в условиях аридной зоны. Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2025. № 3. С. 75-95.

Батаева Ю.В., Григорян Л.Н. Актинобактерии: противовирусная и фитостимулирующая активность. Биотехнология. 2024. Т. 40. № 2. С. 84-92.

Bataeva Yu.V., Grigoryan L.N., Bogun A.G., Kislichkina A.A., Platonov M.E., Kurashov E.A., Krylova J.V., Fedorenko A.G., Andreeva M.P. Biological activity and composition of metabolites of

potential agricultural application from *Streptomyces carpaticus* K-11 RCAM04697 (SCPM-O-B-9993). Microbiology. 2023. V. 92. No. 3. C. 459-467.

Gaber A.A., Saleh M.M., Ahmed A. Induction of plant resistance against Tobacco Mosaic Virus using the biocontrol agent *Streptomyces cellulosa* isolate Actino 48. Agronomy. 2020. No. 10 (1620). P. 1-16

Marzieh E.Z., Roohallah S.R., Mika T.T. Actinobacteria as effective biocontrol agents against plant pathogens, an overview on their role in eliciting plant defense. Microorganisms. 2022. No. 10. P. 1-15

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА ТИМЬЯН-АССОЦИИРОВАННОЙ БАКТЕРИИ *PSEUDOMONAS SP.* UQM 42110 ДЛЯ УСТРАНЕНИЯ АЛЛЕЛОПАТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТИМЬЯНА ОБЫКНОВЕННОГО (*THYMUS VULGARIS L.*)

Е.К. Жаркова¹

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

Тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris* L.), известный продуцент эфирного масла, обладающего высокой антимикробной активностью по отношению к микроорганизмам из различных систематических групп (включая штаммы, вызывающие госпитальные инфекции), при многолетнем бессменном культивировании и вследствие запашки выработанной плантации способен депонировать в почву фенольные соединения, проявляющие аллелопатическое воздействие в экспериментах *in planta*, а также существенно корректирующие структуру микробных сообществ по сравнению с интактным пахотным горизонтом. При этом, являясь растением Средиземноморья, тимьян обыкновенный (*T. vulgaris* L.) при интродукции в зону дерново-подзолистых почв претерпевает негативное воздействие таких факторов, как физиологическая засуха, выпревание, вследствие чего происходит интенсификация активности возбудителей корневых гнилей и других агентов с фитопатогенным потенциалом. Ввиду вышеперечисленных особенностей, а также вследствие необходимости импортонезависимого удовлетворения спроса на экологически безопасные антимикробные соединения, необходима мобилизация адаптационного потенциала тимьян-ассоциированных бактерий, способных проявлять росторегулирующую активность по отношению к высокофенольному растению-хозяину, находящемуся в условиях интродукционного стресса, а также способных к утилизации его фитотоксичных метаболитов. Для достижения такой цели оценивали адаптационный потенциал самой биотехнологичной (как по параметрам культивирования, так и по результативности) тимьян-ассоциированной бактерии *Pseudomonas sp.* UQM 42110, выделенной из ризосферы тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.), интродуцированного в зону дерново-подзолистых почв (г. Москва), при помощи методов классической микробиологии, протеомного и метаболомного анализа.

В результате оценки адаптационного потенциала тимьян-ассоциированной бактерии *Pseudomonas sp.* UQM 42110 к таким фенольным метаболитам растения-хозяина, как тимол, карвакрол и пара-цимол, установлена способность изучаемой бактерии к росту в присутствии и однопроцентного содержания перечисленных антимикробных соединений, причем максимальная скорость роста зафиксирована при добавлении в среду пара-цимола. Самое значительное угнетение роста и изменение морфологии клеток наблюдалась в присутствии тимола (рисунок 1, слева), в то время как добавление карвакрола

стимулировало активное биопленкообразование на поверхности сосуда с динамично культивируемой питательной эмульсией (рисунок 1, справа). Во всех вариантах с добавлением растительных фенольных соединений, а также контроля (кристаллического фенола) изменялся уровень экспрессии порина *OmpF*. При длительном культивировании отмечена полная утилизация пара-цимола, являющегося наиболее стабильным в моделях естественной биodeградации, а также существенное уменьшение содержания тимола и карвакрола (в 2,45 и 2,50 раза соответственно). Последующая проверка на фитотоксичность в экспериментах *in planta* выявила значительное снижение аллелопатического действия суспензий и эмульсий с фенольными соединениями тимьяна, подвергшихся биodeградации при помощи тестируемого штамма, по сравнению с исходными, а при инокуляции изучаемой бактерией растения-хозяина отмечена активизация его роста.

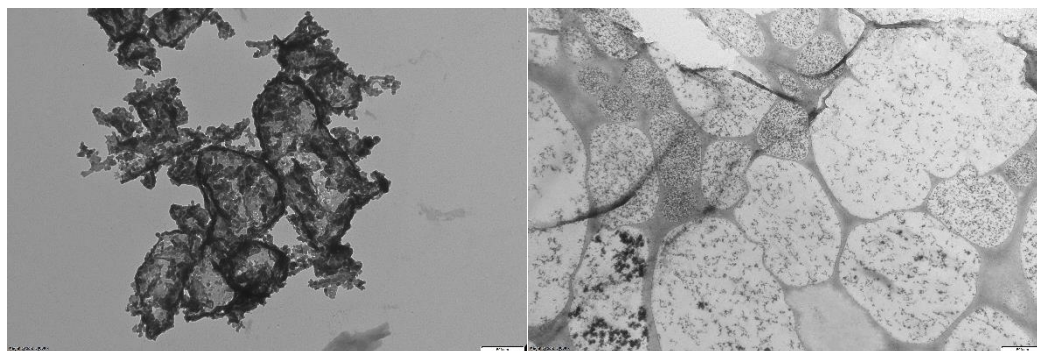


Рисунок 1. Особенности проявления адаптационного потенциала тимьян-ассоциированной бактерии *Pseudomonas sp.* UQM 42110 к фенольным соединениям тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris* L.)

Таким образом, тимьян-ассоциированная бактерия *Pseudomonas sp.* UQM 42110 может служить биотехнологически значимым биорегулятором тимьяна обыкновенного (*T. vulgaris* L.), интродуцируемого в зону дерново-подзолистых почв, вследствие ее высокого адаптационного потенциала по отношению к таким фенольным соединениям растения-хозяина, как тимол, карвакрол и пара-цимол.

«УМНЫЙ ГОРОХ»: СОЗДАНИЕ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНОЙ И ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНОЙ СИСТЕМЫ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

**В.А. Жуков^{1,2}, И.Ю. Журавлёв², А.А. Ляховец², А.Г. Матвеев^{1,2}, А.И. Жернаков¹,
Е.А. Зорин¹, А.С. Сулима¹, И.А. Тихонович^{1,2}**

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), Пушкин, Санкт-Петербург, Российская Федерация, vzhukov@arriam.ru

² Центр Генетики и наук о жизни, Научно-технологический университет "Сириус", ФТ Сириус, Краснодарский край, Российская Федерация, zhuravlev.iy@talantiuspeh.ru

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) – ценная продовольственная культура, способная обеспечить получение высококачественного белка с минимальным экологическим риском за счет образования симбиоза с клубеньковыми бактериями (ризобиями), фиксирующими азот воздуха и тем самым оптимизирующим азотное питание не только основной культуры, но и последующих в севообороте. Технология выращивания гороха должна основываться

на сортах с высокой способностью к вступлению в симбиотические отношения и штаммах ризобий, максимально эффективно фиксирующих атмосферный азот. Для реализации этой стратегии необходимо исключить из «соревнования» аборигенные почвенные бактерии (ризобии, способные вступать в симбиоз с горохом, весьма многочисленны в почвах РФ, но в массе своей способны только к низкоэффективной симбиотической азотфиксации).

Авторами разработана концепция «умного гороха», избирательно вступающего в симбиоз с наиболее эффективными коммерческими штаммами ризобий, вносимыми в почву в составе биопрепаратов и обеспечивающими наиболее высокие показатели азотфиксации, и при этом не образующего симбиотические клубеньки с менее эффективными аборигенными ризобиями. Перспективным решением этой задачи представляется управление распознаванием растениями своих партнёров по симбиозу, которое реализуется за счёт выделения бактериями сигнальных молекул липохито-олигосахаридной природы (Nod-факторов) и их рецепции со стороны растения. Ранее авторами были выявлены штаммы, благодаря наличию гена *nodX* вырабатывающие Nod-фактор особой структуры, который не способны производить большинство аборигенных штаммов ризобий [Четкова, Тихонович, 1986]. Также авторами в коллекции гороха ВИР были обнаружены формы, которые реагируют только на такой модифицированный сигнал и не реагируют на сигнал от «обычных» ризобий [Sulima et al., 2019]. Эта способность к сужению специфичности определяется одной из аллелей идентифицированного авторами гена *LukX* (так называемой «афганской» аллелью, описанной у разновидности гороха, происходящей из Афганистана), который кодирует рецепторный белок, связывающий Nod-фактор и имеющий уникальную последовательность рецепторного домена у «афганской» разновидности гороха [Sulima et al., 2017].

Следовательно, введение данной аллели в генотипы создаваемых сортов должно обеспечить высокую избирательность партнеров при вступлении в симбиоз. Для проверки этой идеи на основе европейского сорта гороха Rondo (Нидерланды) в ходе серии возвратных скрещиваний с «афганским» горохом была получена интрогрессионная линия A33.18, имеющая фенотип высокой специфичности взаимодействия и габитус европейского сорта. Секвенирование генома A33.18 и родительских линий показало, что A33.18 унаследовала от «афганского» гороха два небольших района генома, один из которых несёт гены рецепторных киназ, в том числе *LukX* [Sulima et al., 2025]. В полевом эксперименте была осуществлена инокуляция A33.18 и Rondo штаммом ТОМ, способным образовывать клубеньки на «афганском» горохе, и при помощи ПЦР с праймерами, специфичными к гену *nodX* ризобий, была проведена оценка индивидуальных клубеньков в отношении наличия в них штамма ТОМ или других штаммов, содержащих данный ген. Было установлено, что в варианте инокуляции более 95% клубеньков A33.18 содержали штамм ТОМ, при этом у сорта Rondo доля клубеньков, образованных ТОМ, не превышала 8% (рисунок 1). Таким образом, штамм ТОМ оказался способен успешно формировать клубеньки на корнях линии A33.18 на фоне конкуренции с аборигенной микрофлорой, что подтвердило правоту концепции сужения специфичности растения-хозяина для облегчения конкуренции штамма, вносимого в качестве биопрепарата, с аборигенными микроорганизмами.

Дальнейшая работа будет посвящена разработке технологии эффективного редактирования генома гороха в системе Prime Editing для направленного изменения последовательности гена *LukX* с целью сужения специфичности современных сортов гороха. Параллельно проводится работа по внесению «афганской» аллели *LukX* в современные сорта с использованием линии A33.18 в качестве донора признака узкой специфичности в ходе маркер-ассоциированной селекции (для этого создан молекулярный маркер для идентификации «афганской» аллели *LukX* [Жуков и др., 2024]).

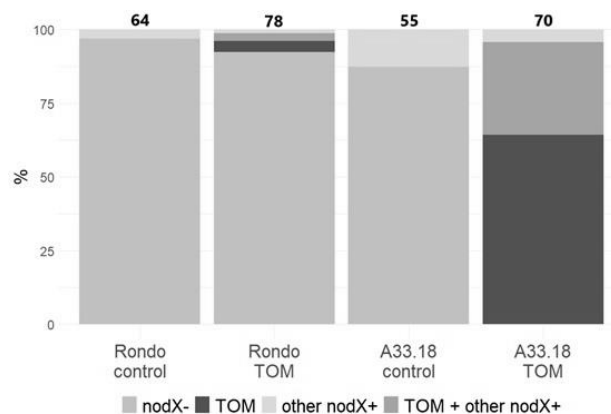


Рисунок 1. Доля клубеньков, образованная штаммами, содержащими и не содержащими ген *nodX*.

Число исследованных клубеньков указано над каждым столбиком. *nodX*- - штаммы, не содержащие гена *nodX*, TOM - штамм TOM, *other nodX*+ - штаммы, содержащие ген *nodX*, но не являющиеся штаммом TOM.

Литература

Жуков В.А., Журавлёв И.Ю., Тихонович И.А. Молекулярно-генетический маркер типа CAPS у растений гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и способ идентификации растений, гомозиготных по аллели, обуславливающей формирование повышенной специфичности по отношению к симбиотическим клубеньковым бактериям // Патент РФ № 2815453, 15.03.2024 г.

Четкова С.А., Тихонович И.А. Выделение и исследование штаммов *Rhizobium leguminosarum*, эффективных на горохах афганского происхождения // Микробиология. 1986. № 55. С. 143-147.

Sulima A.S., Zhukov V.A., Afonin A.A., Zhernakov A.I., Tikhonovich I.A., Lutova L.A. Selection signatures in the first exon of paralogous receptor kinase genes from the *Sym2* region of the *Pisum sativum* L. genome // 2017. *Frontiers in plant science*. Vol. 8. P. 1957.

Sulima A.S., Zhukov V.A., Kulaeva O.A., Vasileva E.N., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A. New sources of *Sym2^A* allele in the pea (*Pisum sativum* L.) carry the unique variant of candidate LysM-RLK gene *LykX* // *PeerJ*. 2019. Vol. 7. P. e8070.

Sulima A.S., Zhuravlev I.Y., Alexeeva E.A., Kliukova M.S., Zorin E.A., Rakova V.A., Gordon M.L., Kulaeva O.A., Romanyuk D.A., Akhtemova G.A., Zhernakov A.I., Semenova E.V., Vishnyakova M.A., Tikhonovich I.A., Zhukov V.A. The genomic and phenotypic characterization of the *Sym2^A* introgression line A33.18 of pea (*Pisum sativum* L.) with the increased specificity of root nodule symbiosis // *Plants*. 2025. Vol. 14(3). P. 427.

КОМБИНИРОВАННЫЙ *IN VITRO/IN SILICO* АЛГОРИТМ ПОДБОРА ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ КОНСОРЦИУМОВ

Р.Е. Зугеева¹, Н.Е. Смунова¹, Е.С. Клименко¹, М.Д. Колобов¹, Н.Л. Белькова¹, Н.В. Семенова¹, Л.В. Рычкова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, iphr@sbamsr.irk.ru

Виды семейства *Lactobacillaceae* относятся к нормобиоте желудочно-кишечного тракта человека, представляют гетерогенную группу бактерий и считаются генетически наследуемыми [Huang, 2022]. Именно они являются наиболее распространенными пробиотиками, которые используются как в виде свежих продуктов ферментации, так и в виде высушенных бактериальных добавок.

Цель работы: провести отбор штаммов лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа здоровых подростков, для создания пробиотического консорциума на основе комбинированного *in vitro/in silico* алгоритма.

Материалы и методы. В исследование вошли 48 штаммов лактобацилл, выделенных из кишечника здоровых подростков.

Чувствительность штаммов лактобацилл к антибактериальным препаратам (АБП) оценивали диско-диффузионным методом для следующих групп АБП: пенициллины, тетрациклины, линкозамиды, макролиды, амфениколы (НИЦФ, Россия) [Смурова, 2025].

Антагонистическую активность определяли методом перпендикулярных штрихов и методом лунок. Результаты выражали как средний диаметр зон подавления роста, категории активности согласно методическим указаниям: для метода перпендикулярных штрихов – 4-9 мм – слабая активность, 10-14 мм – средняя, ≥ 15 мм – высокая, для метода лунок – зона ингибирования 10-15 мм – слабая, 16-20 мм – средняя, > 21 мм – сильная [Горкавенко, 2025].

Геномную ДНК выделяли коммерческим набором «Набор для выделения геномной ДНК из бактериальных клеток» (diaGene, Россия). Полногеномное секвенирование проводили на секвенаторе «HELICON G400» (MGI, Китай) с двусторонним считыванием (2 $\times$ 150 N). Биоинформационную обработку данных и сборку геномов проводили на онлайн платформе Galaxy (<https://galaxyproject.org>). Поиск генов антибиотико-резистентности проводили с помощью баз данных CARD v.4.0.1 и ResFinder v.4.7.2. Гены вирулентности детектировали с использованием базы данных VFDB v.6.0. Функции генов определяли с помощью eggNOG Mapper v.5.0.2. Поиск кластеров генов, ассоциированных с синтезом биоактивных метаболитов, проводили на веб-сервисах antiSMASH v.8.0 и gutSMASH v.2.0. Кластеры генов, отвечающих за продукцию бактериоцинов разных классов, определяли с помощью программы Bagel 4. Поиск последовательностей плазмид и их характеристику проводили в программе MOB-Recon v.3.1.9.

Результаты. Фенотипически все штаммы были чувствительны к большинству АБП. Все штаммы проявляли антагонизм к тест-культурам, который оценивали двумя методами. Методом штрихов высокая активность отмечена у 8% штаммов, слабая — у 56%; методом лунок — у 6 и 58% соответственно. На основании оценки антагонистической активности отобрано 13 штаммов лактобацилл для проведения полногеномного секвенирования.

В геномах всех проанализированных штаммов лактобацилл гены антибиотикорезистентности и вирулентности, ответственные за патогенез по отношению к человеку, не были обнаружены. Отсутствие данных генетических детерминант позволяет определять исследуемые штаммы как безопасные на данном этапе проверки. Полученные данные геномного анализа подтверждают результаты фенотипической оценки чувствительности к антибактериальным препаратам.

В геномах лактобацилл выявлено восемь биосинтетических кластеров генов. Все штаммы содержали кластеры биосинтеза предшественника терпенов. Гены, отвечающие за биосинтез рибосомальных пептидов, обнаружены у штаммов видов *L. paracasei*, *L. rhamnosus* и *L. fermentum*. Кластеры генов синтеза поликетидов были обнаружены у всех штаммов вида *L. rhamnosus*. Гены катаболизма аргинина через аргинин-деиминазный путь отмечены у штаммов *L. leichmannii* 19P, 21P, 23P и *L. delbrueckii* 25P. Кластер генов синтеза ацетата/формиата определен для всех штаммов видов *L. rhamnosus* и *L. paracasei*. Все штаммы видов *L. rhamnosus* и *L. fermentum* содержали кластеры биосинтеза жирных кислот. Дополнительно для штаммов *L. rhamnosus* определена потенциальная способность к метаболизму галловой кислоты.

В геномах всех исследуемых штаммов лактобацилл были обнаружены кластеры генов, отвечающих за синтез различных бактериоцинов. Геномы штаммов *L. leichmannii* 19P, 21P, 23P и *L. delbrueckii* 25P содержали гены хельвецитина J и энтеролизина A. Все штаммы вида *L. rhamnosus* имели гены синтеза карноцина CP52 и энтероцина X. В геномах некоторых штаммов дополнительно были детектированы гены энтеролизина A (37P), гарвицина Q (60P, 61P) и бактериоцина LSEI_2386 (59P). Наибольшее количество бактериоцинов было установлено для штаммов *L. paracasei* 32P и 36P – пять кластеров синтеза энтеролизина A, карноцина CP52, энтероцина X, LSEI_2386 и термофилина A.

Тогда как штамм *L. fermentum* 67P содержал только один кластер энтеролизина А. Наличие генов синтеза биоактивных вторичных метаболитов и бактериоцинов определяет пробиотический потенциал исследуемых штаммов.

В геномах 12 из 13 исследуемых штаммов были обнаружены плазмиды. Штамм *L. rhamnosus* 34P не содержал плазмид. В среднем штаммы содержали одну/две плазмиды, за исключением *L. paracasei* 36P, в геноме которого идентифицировали шесть плазмид. Семь из 20 проанализированных плазмид определены как мобильные. По результатам аннотации, плазмиды штаммов 36P, 61P и 67P кодировали белки мультитекарственного ABC-транспортера. Также в мобильной плазмиде штамма 67P обнаружены гены бета-лактамазы, активатора вирулентности альфа семейства PadR и ген *tetR*, обеспечивающий устойчивость к факторам внешней среды, в том числе к антибиотикам [Colclough, 2019]. На основании наличия небезопасных генетических детерминант в плазмидах, штаммы 36P, 61P и 67P были исключены из списка кандидатов в пробиотики.

Таким образом, комбинированный *in vitro* / *in silico* алгоритм, включающий определение фенотипической чувствительности к антибиотикам, оценку антагонистической активности в отношении условно-патогенных бактерий и аннотацию полных геномов, позволил отобрать 10 из 40 штаммов лактобацилл для дальнейшей разработки пробиотических консорциумов.

Исследование выполнено в рамках государственной темы № 125011600372-4.

Литература

Горкавенко А.С., Колобов М.Д, Зугеева Р.Е., и др. Пилотное исследование *in vitro* антагонистических свойств изолятов *Lactiplantibacillus plantarum*, выделенных из кишечника здоровых подростков Иркутской области. // Acta Biomedica Scientifica. 2025. Т. 10. №4. С. 113–120.

Смунова Н.Е., Горкавенко А.С., Зугеева Р.Е., и др. Изучение чувствительности к антибактериальным препаратам лактобацилл, выделенных из кишечного биотопа подростков // Бюл. exper. биол. 2025. Т. 180, № 11. С. 609–614.

Colclough A.L. TetR-family transcription factors in Gram-negative bacteria: conservation, variation and implications for efflux-mediated antimicrobial resistance. // BMC Genomics. 2019. Vol. 20. P. 731.

Huang R., Wu F., Zhou Q., et al. Lactobacillus and intestinal diseases: Mechanisms of action and clinical applications. // Microbiol. Res. 2022. V. 260. P. 127019.

ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРЕМОТОЛЕРАНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО УДОБРЕНИЯ НА ОСНОВЕ ПОБОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПТИЦЕВОДСТВА

К.Г. Иванова¹, Ю.Г. Максимова^{1,2}

¹"Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН" – филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, semenovakseniya2014@yandex.ru

²Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, yul_max@mail.ru

В настоящее время остается актуальной проблема переработки побочных продуктов птицеводства, связанная с накоплением значительных количеств органических отходов [Наумова и др., 2021]. Одним из наиболее эффективных приёмов их утилизации является компостирование с использованием биопрепаратов на основе консорциума микроорганизмов [Rynk et al., 2022]. В результате переработки куриного помета получают эффективное органическое удобрение, которое, в отличие от иных компостов на основе побочных продуктов, содержит большее количество фосфора. Как известно, данный элемент способствует росту и развитию растений, однако большая его часть находится в виде малорастворимых органических и неорганических соединений [Semenov et al., 2023].

В свежем виде куриный помет характеризуется высокой щелочностью, а в процессе компостирования подвергается температурным колебаниям, достигая 50-60°C [Panda et al., 2019]. Как следствие, для его переработки требуются микроорганизмы, устойчивые к таким экстремальным условиям. Целью данной работы являлось создание консорциума на основе фосфатмобилизирующих и фитатгидролизующих микроорганизмов для переработки куриного помета в органическое удобрение.

Для выделения микроорганизмов были отобраны образцы грунта содового шламохранилища АО «Березниковский содовый завод». Известно, что в таких почвах с высокой техногенной нагрузкой формируется специфический микробиоценоз, адаптированный к экстремальным факторам среды [Hedi et al., 2009].

Штамм *Enterobacter ludwigii* ФМ 3.4.2 выделен на питательной среде, содержащей в качестве единственного источника фосфора нерастворимый фосфат кальция, а штамм *Silvania hatchlandensis* ФГ 3.9.1 – на среде с фитатом натрия. У штамма *E. ludwigii* ФМ 3.4.2 выявили способность к фосфатмобилизации: фосфатазная активность $0,0437 \pm 0,0013$ мкмоль/(мин·л); увеличение концентрации свободного фосфора до $348,79 \pm 17,99$ мкг/мл через 231 ч роста на среде с трикальцийфосфатом. Фитазная активность штамма *S. hatchlandensis* ФГ 3.9.1 составляла $69,34 \pm 0,96$ мкмоль/(мин·л). Была показана способность обоих штаммов расти при температуре +50°C, до 50 г/л NaCl в среде, а также при pH 9.

В результате экспериментального подбора оптимального состава биопрепарата в его основу включили штаммы с фосфатмобилизирующей (*E. ludwigii* ФМ 3.4.2), фитатгидролизующей (*S. hatchlandensis* ФГ 3.9.1), пептонгидролизующей (*Achromobacter* sp. 14П), азотфиксирующей (*Serratia plymuthica* АФ 3.9.3) активностями, а также лактобактерии (*Lactobacillus plantarum*). Показано, что *L. plantarum* и *Achromobacter* sp. 14П способствовали приживаемости штаммов, мобилизующих фосфор нерастворимых его соединений. В частности, установлено, что фунгицидная активность лактобактерий способствовала увеличению титра фосфатмобилизирующих микроорганизмов, рост которых подавлялся в ходе компостирования под действием грибов. В свежем курином помете (pH 9) не было обнаружено бактерий, высвобождающих неорганический фосфор, в отличие от удобрения, полученного в результате применения биопрепарата – $(1,70 \pm 0,14) \cdot 10^7$ КОЕ/г к 28-м суткам компостирования.

Готовый компост характеризовался высокой концентрацией свободного фосфора – $1594,3 \pm 154,4$ мкг/г в отличие от содержания его в курином помете до переработки – $836,5 \pm 82,6$ мкг/г. Фосфатмобилизирующие и фитатгидролизующие бактерии способствовали не только увеличению подвижных форм фосфора, но и снижению pH в органическом удобрении до 7,5.

Полученное в результате переработки помета удобрение отвечало стандартам по содержанию основных элементов (С, N, Р). Отмечено увеличение содержания фосфат-ионов, калия и натрия, а также уменьшение концентрации некоторых тяжелых металлов (табл. 1).

Таблица 1 – Свойства органического удобрения на основе куриного помёта

Наименование показателя	Свежий куриный помет	Органическое удобрение (куриный помет после переработки)
Массовая доля питательных веществ в удобрении, %		
- углерода общего	32,46	30,30
- азота общего	2,23	2,43
- фосфора общего, в пересчёте на P ₂ O ₅	1,96	2,17

Концентрация отдельных элементов, мг/кг		
- Cu	0,1675	0,0670
- Pb	0,6333	0,2192
- Cd	0,396	0,0396
- K	267,6128	403,6559
- Na	80,5648	164,6472
- Mn	0,7365	0,0396
- Zn	0,1675	0,0670
- Fe	2,8225	2,4980

Таким образом, экстремотолерантные фосфатмобилизующие и фитатгидролизующие бактерии, выделенные из высокоминерализованной среды антропогенного происхождения, являются устойчивыми к щелочной среде куриного помета и температурным условиям компостирования. Включение их в состав биопрепарата позволяет эффективно утилизировать отходы птицеводства, а также получать в результате переработки агрономически ценное органическое удобрение.

Исследование выполнено при поддержке гранта № 19112ГУ/2023 в рамках программы фонда содействия инновациям УМНИК, а также в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы – 124020500028-4.

Литература

- Наумова Н.Б., Ручко Е.Н., Савенков О.А., Плешакова В.И. Микробиом почвы и сельскохозяйственных культур при внесении компоста куриного помета // Почвы и окружающая среда. 2021. № 4 (1). С. 35–49.
- Hedi A., Sadfi N., Fardeau M.L., Rebib H., Cayol J.L., Ollivier B., Boudabous A. Studies on the Biodiversity of Halophilic Microorganisms Isolated from El-Djerid Salt Lake (Tunisia) under Aerobic Conditions // International journal of microbiology. 2009, pp. 1-17.
- Panda A.K., Bisht S.S., De Mandal S., Kumar N.S. Microbial diversity of thermophiles through the lens of next generation sequencing // Microbial diversity in the genomic era. Academic Press. 2019, pp. 217–226.
- Rynk R., Cooperband L., Oshins C., Wescott H., Bonhotal J., Schwarz M., Sherman R., Brown S. Why compost? // The Composting Handbook. Academic Press. 2022. P. 1–26.
- Semenov M., Zhelezova A., Ksenofontova N., Ivanova E., Nikitin Dmitry. Chicken manure as an organic fertilizer: composting technologies and impact on soil properties (a review) // Dokuchaev Soil Bulletin. 2023. pp. 160-198.

МИКРОБНЫЙ АНТАГОНИЗМ – МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ ИЛИ ЦЕННЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПРИЗНАК?

А.Н. Иркитова¹, Н.В. Лапшина¹, Д.Е. Дудник¹, А.В. Малкова¹

ФГБОУ ВО Алтайский государственный университет, Барнаул, Elen171987@mail.ru

При отборе штаммов в состав биологических препаратов для сельского хозяйства учитывают целый комплекс их биологических свойств: морфолого-культуральные и тинкториальные признаки, ферментативный спектр, скорость роста, неприхотливость при культивировании, способность к масштабированию (рост на производственных нестабильных субстратах, устойчивость к заморозке, сушке и пр.), сохранение жизнеспособности длительное время и многие другие признаки. В практической биотехнологии на протяжении многих лет используют бактерии рода *Bacillus* из-за их высокой устойчивости к факторам среды, в том числе производственным и высокой биологической активности [Дудник, 2024; Иркитова, Евдокимов, 2025].

Особенно ценным признаком при скрининге перспективных штаммов для биопрепаратов является их антагонистическая активность к патогенной микрофлоре макроорганизмов. Микробный антагонизм может быть прямой и опосредованный. Прямой осуществляется за счет выделения различных вторичных метаболитов (бактериоцины, антибиотики, ферменты и др.), токсичных для других микроорганизмов. Опосредованный антагонизм бактерий осуществляется через изменение факторов среды обитания, например, выделение органических кислот (уксусная, молочная) или перекиси водорода, из-за чего условия становятся угнетающими для других микроорганизмов. Еще одной формой опосредованного микробного антагонизма является конкуренция между микроорганизмами за элементы субстрата (источники углерода или азота, железо и пр.) или конкуренция за место адгезии, а также скорость роста и размножения [Рябинин, Бараненко, 2020; Щекотова, Атласова, 2022; Оробей, Рыбалова и др., 2023].

С одной стороны, микробный антагонизм, в том числе у бацилл, является важным механизмом адаптации в природных экосистемах. Благодаря этому свойству микроорганизмы получают преимущества в борьбе за питательные вещества, пространство и источники энергии, формируют устойчивые микробные сообщества и «контролируют» распространение патогенов в различных биотопах.

С другой стороны, антагонистическая активность бактерий – ценный технический признак с точки зрения применения в сельском хозяйстве и других отраслях промышленности. Обнаружение и количественная оценка антагонистической активности у природных изолятов позволяет целенаправленно отбирать перспективные штаммы-продуценты в состав биологических препаратов для растений, животных и аквакультуры.

На основе таких активных штаммов коллективом ИЦ Промбиотех АлтГУ разработаны биологические препараты (средство защиты и стимулятор роста растений, пробиотик для аквакультуры и животных, дезинфектант для сельскохозяйственных помещений и подстилки, препарат для ферментации навоза), которые действуют высокоспецифично и целенаправленно против конкретных патогенов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Губернатора Алтайского края, соглашение № 30-2025-006505.

Литература

Дудник Д.Е. Биохимическая характеристика новых штаммов *Bacillus* spp., перспективных для включения в биопрепарат для животноводства // тезисы III международной конференции «Сохранение и преумножение генетических ресурсов микроорганизмов», г. Санкт-Петербург. 2024. – С. 81.

Иркитова А.Н., Евдокимов И.Ю. Особенности масштабирования микробиологических разработок // 5-й Российский микробиологический конгресс: сборник тезисов докладов; Волгоград, 29 сентября – 3 октября 2025 г. / под ред. Д. А. Бабкова. – Волгоград: Библиотечно-издательский центр ВолГМУ. 2025. С. 182 – Текст: электронный.

Оробей Л.М., Рыбалова В.А., Спиряхина Т.В., Хапцев З.Ю., Иващенко С.В., Соловьёва А.А. Изучение антимикробной активности *Paenibacillus polymyxa* // Материалы Национальной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора медицинских наук, профессора Леонида Федоровича Зыкина. Саратов. – 2023. – С. 155–162.

Рябинин Г.В., Бараненко Д.А. Альтернативные антимикробные агенты, полученные селективной сорбцией из культуры *Lactobacillus helveticus* Д75 // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2020. №1. С. 81–90. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2020-10-1-81-90/>

Щёктова А.В., Атласова Д.В. Изучение биологических взаимоотношений биохимических свойств пробиотических микроорганизмов // Вестник ВСГУТУ. 2022. №3 (86). С. 36–45.

ИЗУЧЕНИЕ ПУТЕЙ АДАПТАЦИИ БАКТЕРИЙ К РАСТВОРИМЫМ ФОРМАМ СЕЛЕНА: МОЛЕКУЛЯРНО-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

А.А. Камнев^{1,2}

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, ФИЦ «Саратовский научный центр Российской академии наук» (ИБФРМ РАН), Саратов, email:

a.a.kamnev@mail.ru

² Институт биофизики СО РАН, ФИЦ «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» (ИБФ СО РАН), Красноярск

В биогеохимическом цикле селена, соединения которого попадают в окружающую среду вследствие как антропогенных факторов (сжигания ископаемого топлива, добычи полезных ископаемых, использования ядерного топлива, сельскохозяйственной деятельности), так и природных процессов (выветривания Se-содержащих горных пород и почв, извержения вулканов), важную роль играют микроорганизмы. Растворимые формы селена (РФС; в основном это неорганические оксоанионы – селенит SeO_3^{2-} и селенат SeO_4^{2-}), являющегося жизненно важным микроэлементом, при нахождении в почве и водоемах в повышенных концентрациях для микробиоты токсичны. Основным естественным путем микробной детоксификации РФС является их восстановление, протекающее по многочисленным механизмам у различных микроорганизмов (с возможностью параллельного функционирования двух и более механизмов у одного и того же организма) (Ojeda et al., 2020; Tugarova & Kamnev, 2017; Tugarova et al., 2024). В ряде случаев возможна частичная ассимиляция клетками восстановленных соединений селена с образованием ряда Se-содержащих аминокислот. При диссимиляторном восстановлении РФС (детоксификация) чаще всего образуются биогенные наноразмерные структуры, содержащие элементарный селен(0); в некоторых случаях были обнаружены наночастицы с содержанием не только селена(0) (Se-HЧ), но и его соединений с ковалентно связанными атомами серы, что характерно для сред с повышенным содержанием растворимых соединений серы и связано с включением соединений селена в микробные метаболические пути для серы (см. Tugarova et al., 2025a, 2025b и цитируемые в них ссылки), а также наночастицы селенидов различных металлов. Отметим, что все вышеуказанные биогенные наноструктуры имеют очень широкий спектр биотехнологических применений, а возможности их “зеленого” синтеза, в частности, с помощью микроорганизмов представляют удобные и экологически безопасные способы их получения. Ввиду этого стремительно развиваются исследования процессов образования биогенных наноструктур селена в различных микробных системах, устойчивости микроорганизмов к РФС с выделением высокоустойчивых штаммов, механизмов микробной трансформации соединений селена, а также свойств и биологической активности образующихся наноразмерных продуктов.

Биовосстановление оксоанионов селена устойчивыми к РФС почвенными и водными микроорганизмами с образованием нетоксичных нерастворимых в воде Se-HЧ является также перспективным методом биоремедиации загрязненных селеном сайтов. С другой стороны, для регионов с недостаточным содержанием селена в почве использование фитостимулирующих бактерий наряду с улучшением роста и развития культурных растений может способствовать биофортификации последних с накоплением селена в семенах и/или зеленой биомассе. Для морских люминесцентных бактерий, используемых для мониторинга токсичности водных сред вследствие влияния токсикантов на интенсивность биолюминесценции клеток, начаты исследования поведения бактерий рода *Photobacterium* в присутствии селенита (в том числе дозозависимой активации и подавления биолюминесценции) с параллельным восстановлением селенита и образованием Se-HЧ (Zenkov et al., 2025).

Для исследования образования наноструктур селена в микробной биомассе (и их свойств после отделения от клеточной биомассы), а также для мониторинга биомакромолекулярного состава клеток *in situ* (непосредственно в биомассе) информативными являются современные методы молекулярной и, в частности, колебательной спектроскопии (Kamnev et al., 2026; Tugarova et al., 2025a, 2025b). Последние включают инфракрасную фурье-спектроскопию (ИКФС) и спектроскопию комбинационного рассеяния света (КРС). Оба метода используют регистрацию колебательных спектров функциональных групп биомолекул, но основаны на различных физических принципах и по получаемой информации на молекулярном уровне являются комплементарными. Преимуществом спектроскопии КРС является возможность проведения измерений не только *in situ*, но и *in vivo* – на образцах водных суспензий живой биомассы (Kamnev et al., 2026), тогда как для ИКФС обычно используются высушенные (лиофилизированные) препараты биомассы вследствие сильного поглощения воды в ИК-спектрах. Для соединений селена по ряду полос специфических колебаний в спектрах КРС можно различать как его ковалентно связанные формы, так и разные аллотропные модификации Se-НЧ (как аморфные, так и кристаллические), в том числе при их образовании непосредственно в биомассе клеток (Tugarova et al., 2025a, 2025b). ИК-спектры в случае выделенных биогенных Se-НЧ и иных наноструктур селена дают ценную информацию о макромолекулярном составе биоорганического слоя на поверхности наночастиц, который во многом определяет их свойства и биологическую активность (Ojeda et al., 2020; Tugarova & Kamnev, 2017).

В настоящем докладе будут обсуждены биотехнологически важные пути адаптации некоторых почвенных и морских бактерий (на примерах бактерий родов *Azospirillum* и *Photobacterium*) к РФС, включающие трансформацию соединений селена, с использованием данных молекулярно-спектроскопических методов (ИКФС, спектроскопии КРС, измерений биолюминесценции).

Исследования поведения люминесцентных бактерий рода Photobacterium в присутствии селенита поддержаны грантом № 26-14-20001 Российского научного фонда (конкурс № 119, 2025 г.; <https://rscf.ru/project/26-14-20001/>) и Красноярского краевого фонда науки.

Литература

Kamnev A.A., Starchikov S.S., Dyatlova Yu.A., Klimin S.A., Zayakhanov V.A., Frolov K.V., Lyubutin I.S., Tugarova A.V. Comparative in-situ Mössbauer and vibrational spectroscopic monitoring of changes in cells of the rhizobacterium *Azospirillum lipoferum* Sp59b upon lyophilisation // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2026. Vol. 357. Article 127763.

Ojeda J.J., Merroun M.L., Tugarova A.V., Lampis S., Kamnev A.A., Gardiner P.H.E. Developments in the study and applications of bacterial transformations of selenium species // Critical Reviews in Biotechnology. 2020. Vol. 40. P. 1250–1264.

Tugarova A.V., Kamnev A.A. Proteins in microbial synthesis of selenium nanoparticles // Talanta. 2017. Vol. 174. P. 539–547.

Tugarova A.V., Mamchenkova P.V., Vladimirova A.A., Petrova L.P., Shelud'ko A.V., Kamnev A.A. Role of denitrification in selenite reduction by *Azospirillum brasilense* with the formation of selenium nanoparticles // Front. Biosci.–Landmark. 2024. Vol. 29. Article 361.

Tugarova A.V., Vladimirova A.A., Dyatlova Yu.A., Kamnev A.A. Raman spectroscopic and TEM monitoring of selenite and selenate reduction by the bacterium *Azospirillum thioophilum* with the formation of selenium(0) nanoparticles: Effects of sulfate // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2025a. Vol. 329. Article 125463.

Tugarova A.V., Vladimirova A.A., Dyatlova Yu.A., Kamnev A.A. Reductive detoxification of selenium(VI) oxyanions (SeO_4^{2-}) by *Azospirillum thioophilum* to nano-sized Se^0 // Chemoecology. 2025b. Vol. 35. P. 135–143.

Zenkov A.V., Sushko E.S., Mogilnaya O.A., Volochaev M.N., Shabanov A.V., Kamnev A.A., Tugarova A.V., Kudryasheva N.S. Application of the luminous bacterium *Photobacterium phosphoreum*

ВЛИЯНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ МОДИФИКАЦИИ МОЛЕКУЛЫ 1-[(2R,3R,4S,5R)-3,4-ДИГИДРОКСИ-5-(ГИДРОКСИМЕТИЛ)ОКСОЛАН-2-ИЛ]-1Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-КАРБОКСАМИДА НА ПРОТИВОГРИБКОВУЮ АКТИВНОСТЬ

К.И. Киенская¹, К.С. Должикова¹, И.А. Буторова¹, А.В. Кухаренко¹,
М.В. Сардушкин²

¹Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, г. Москва
kienskaia.k.i@muctr.ru

²Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, г. Москва
s_makar@mail.ru

Синтез новых производных триазолов представляет собой интересную и актуальную задачу, поскольку ко многим известным соединениям микроорганизмы проявляют высокую резистентность. Помимо этого, синтез новых соединений может быть направлен на уменьшение минимальной ингибирующей концентрации этих препаратов.

Среди множества известных биологически активных соединений, содержащих триазольное кольцо, особый интерес представляет молекула, полное название которой указано в названии настоящей работы, а для большинства исследователей известная как «рибавирин». В предыдущих исследованиях было показано, что потенциальные возможности рибавирина не раскрыты до сих пор. Его можно назвать классическим «не-антибиотиком», проявляющим, помимо основных противовирусных свойств, еще и антибактериальную и противогрибковую активность, в частности, против *Fusarium culmorum*, вызывающим фузариоз сельскохозяйственных культур.

Химическое модифицирование молекулы рибавирина позволит, на наш взгляд, усилить его антимикробные свойства, в частности, противогрибковые и использовать полученный эффект для сельского хозяйства. Предварительные исследования показали, что обработка почвы водными растворами рибавирина способствует увеличению многообразия почвенной микрофлоры, что зачастую играет положительную роль в развитии ряда растений и культур.

В организме человека рибавирин подвергается метаболизму, вследствие чего фосфорилируется с образованием эфиров фосфорной кислоты по гидроксильным группам рибозного фрагмента. Проведение такой реакции *in-vitro* показало, что антимикробная активность существенно не изменилась, что подтвердило предположение о том, что за биологическую активность в молекуле рибавирина отвечает триазольное кольцо.

Развивая направление о модификации молекулы рибавирина, в настоящий момент можно выделить идею о синтезе gemini-ПАВ на его основе. Предпосылкой данного направления послужила работа [Bogdanov, 2024], в которой описан синтез и биологическая активность ряда димерных ПАВ, содержащих триазольный фрагмент. Синтез gemini-ПАВ на основе рибавирина, по нашим предположениям, может быть осуществлен в 4 стадии, включая реакцию восстановления амидной группы, получения основания Шиффа, с последующим гидрированием и алкилированием с использованием галогенпроизводных.

Основная проблема на данном этапе заключается в подборе соответствующих растворителей для каждой стадии процесса. Биологическая активность будет исследована как для конечного продукта, так и промежуточных продуктов после каждой стадии синтеза.

Литература

Bogdanov I., Mironova D., et al. New Asymmetric Gemini Triazole Surfactants with a Polar Triethylene Glycol Fragment: Synthesis and Physico-Chemical Properties // *Molecules*. 2024. V.29. P. 5420-5438.

ГЕНОМНЫЙ ПОРТРЕТ И ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM* N68-ZH

Е.С. Клименко, Н.Л. Белькова, Н.Е. Смурова, Р.Е. Зугеева, Л.В. Сутурина
ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск,
klimenko.elizabet@gmail.com

Полногеномное секвенирование является ключевым инструментом для оценки безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, позволяя выявлять гены устойчивости к антимикробным препаратам, факторы вирулентности и биосинтетические кластеры [Boolchandani et al., 2019; Ellington et al., 2017]. Использование геномных подходов особенно важно при отборе новых штаммов с пробиотическими свойствами [Zheng et al., 2020; Hill et al., 2014].

Целью работы явилась комплексная геномная характеристика и оценка безопасности штамма *Lactiplantibacillus plantarum* N68-zh, выделенного из фекального материала здорового донора.

Полногеномное секвенирование штамма выполнено с последующей сборкой de novo и аннотацией генома. Анализ включал поиск генов антибиотикорезистентности, факторов вирулентности, мобильных генетических элементов, а также идентификацию кластеров вторичных метаболитов [Alcock et al., 2020; Blin et al., 2023]. Дополнительно проведены фенотипическая оценка ростовых характеристик и определение чувствительности к антибиотикам.

Геном штамма N68-zh представлен 137 контигами общей длиной 2,87 Мб с GC-содержанием 38,14% и высоким покрытием (1300x). Филогеномный анализ подтвердил принадлежность штамма к виду *L. plantarum* и его близость к изолятам кишечного происхождения.

В геноме не обнаружено генов, кодирующих устойчивость к клинически значимым классам антибиотиков, а также факторов вирулентности и значимых мобильных генетических элементов, что указывает на низкий риск горизонтального переноса генов и благоприятный профиль биобезопасности. Выявлен единичный ген, ассоциированный с устойчивостью к ванкомицину, с низким уровнем гомологии, что не указывает на функциональную детерминацию резистентности. Фенотипически штамм проявил чувствительность к большинству тестируемых антибиотиков.

Идентифицированы четыре биосинтетических кластера, ассоциированных с продукцией вторичных метаболитов (терпены, поликетиды, сигнальные молекулы и RiPP-подобные пептиды), что соответствует данным о метаболическом потенциале штаммов *L. plantarum* [Kanehisa et al., 2021; Zheng et al., 2020].

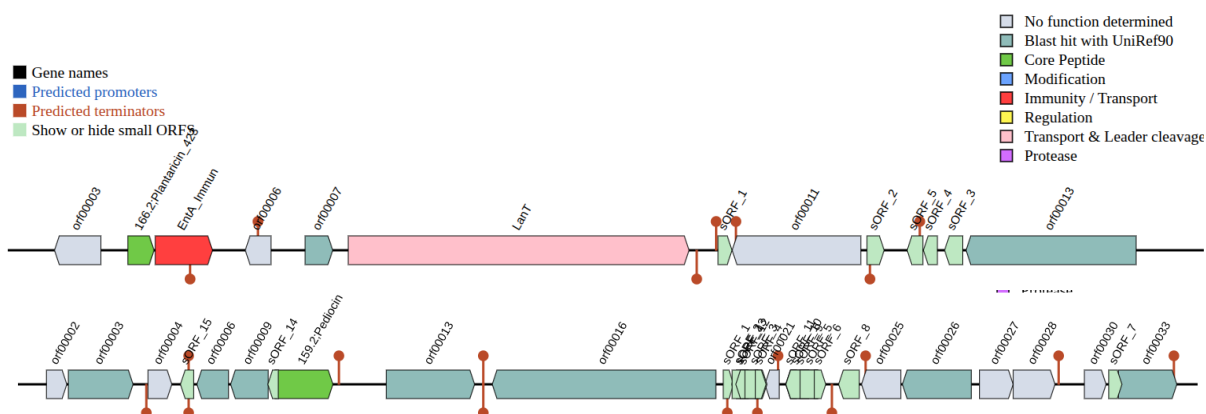


Рисунок. Предсказанные бактериоциновые кластеры в геноме штамма *L. plantarum* N68-zh

Анализ генома штамма N68-zh выявил наличие генетических кластеров, потенциально связанных с синтезом бактериоцинов и системами иммунитета/транспорта (Рисунок).

Полученные данные свидетельствуют о благоприятном геномном профиле безопасности штамма *L. plantarum* N68-zh и подтверждают его перспективность для дальнейшего изучения и применения в составе пробиотических препаратов.

Работа выполнена в рамках поисковой научной темы № 126020216231-0.

Литература

- Boolchandani M., D'Souza A.W., Dantas G. Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance // *Nature Reviews Genetics*. 2019. Vol. 20. No. 6. P. 356-370.
- Ellington M.J., Ekelund O., Aarestrup F.M. et al. The role of whole genome sequencing in antimicrobial susceptibility testing of bacteria // *Clinical Microbiology and Infection*. 2017. Vol. 23. No. 1. P. 2-22.
- Zheng J., Wittouck S., Salvetti E. et al. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2020. Vol. 70. No. 4. P. 2782-2858.
- Hill C., Guarner F., Reid G. et al. ISAPP consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic // *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2014. Vol. 11. No. 8. P. 506-514.
- Alcock B.P., Raphenya A.R., Lau T.T.Y. et al. CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database // *Nucleic Acids Research*. 2020. Vol. 48. No. D1. P. D517-D525.
- Blin K., Shaw S., Augustijn H.E. et al. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation // *Nucleic Acids Research*. 2023. Vol. 51. No. W1. P. W46-W50.
- Kanehisa M., Furumichi M., Sato Y., Ishiguro-Watanabe M., Tanabe M. KEGG: integrating viruses and cellular organisms // *Nucleic Acids Research*. 2021. Vol. 49. No. D1. P. D545-D551.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМЫ ТРАНСПОРТА ТРЕГАЛОЗЫ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ МИКОБАКТЕРИЙ

Н.В. Козобкова¹, Д.В. Яшунский², Н.Э. Нифантьев², А.П. Савицкий¹, М.О. Шлеева¹

¹ФИЦ Биотехнологии РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН, Москва,
natalia.cosolapowa@gmail.com

² Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва.

Антибиотикорезистентность микобактерий остается одной из главных проблем инфекционной медицины из-за распространения и появления штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Существующие подходы к лечению характеризуются

ограниченной эффективностью, длительностью терапии и выраженными побочными эффектами, что диктует необходимость разработки новых методов лечения.

Антибактериальная фотодинамическая терапия (аФДТ) рассматривается как перспективный подход к борьбе с микобактериальными инфекциями. Однако низкая селективность фотосенсибилизаторов и токсичность для клеток хозяина ограничивают клиническое применение, поэтому требуется повышение таргетности и снижение побочных эффектов.

Трегалоза как компонент метаболизма микобактерий участвует в формировании клеточной стенки и осмотической защите, обеспечивает специфичность связывания и переноса за счет существующих транспортных систем и пермеаз, что делает ее перспективной молекулярной «мишенью» для направленной доставки терапевтических агентов.[Babu Sait и др., 2022; Liang и др., 2023]. Синтез конъюгатов с трегалозой обладает высоким потенциалом, так как обеспечивает селективный транспорт внутрь микобактерий за счет активности их специфических трегалозных транспортеров, что повышает накопление фотосенсибилизатора в бактериях.

Цель работы - оценка возможности адресной доставки фотосенсибилизаторов (ФС) в микобактерии с использованием трегалозных транспортных систем для повышения селективности аФДТ. Исследовано три фотосенсибилизатора: Pheo-N-Me-glucamin (свободный феофорбид); 839-3 (феофорбид с трегалозой) и 845-3 (метилглюкаминная соль хлорина Е6 с трегалозой). *Mycobacterium smegmatis* выращивали в среде Nutrient Broth (NB) (HIMEDIA, Индия) с добавлением 0,05% Tween-80. Оптическая плотность культуры OD₅₉₀ – 0,11. ФС добавляли в концентрации 100 мкМ, инкубация составляла 24 ч при 37°C при постоянном перемешивании. Облучение проводили светодиодом (635 нм, 55 мин, световая доза 100 Дж/см², 31 мВт/см²).

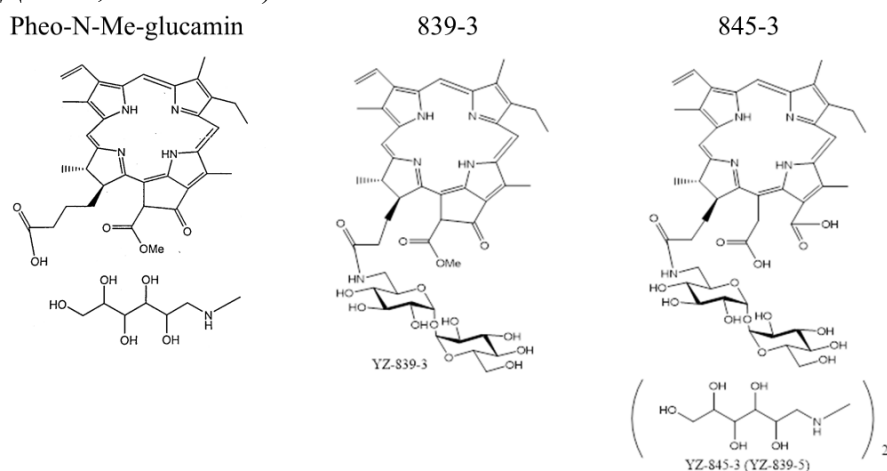


Рис.1 Структурные формулы фотосенсибилизаторов.

Максимальная интенсивность флуоресценции клеток *M. smegmatis* зафиксирована после инкубации с 845-3, что подтверждает эффективное накопление трегалозо-связанного ФС внутри бактериальных клеток.

Наиболее выраженный фотодинамический эффект (снижение жизнеспособности клеток *M. smegmatis* в ~ 17 500 раз) также наблюдается для 845-3 после 24-х часовой инкубации с клетками. Конъюгация с трегалозой значительно повышает фотодинамическую активность фотосенсибилизаторов по сравнению со свободными формами. Гидрофобный конъюгат 839-3 инактивирует *M. smegmatis* на 2 log₁₀, а гидрофильный конъюгат 845-3 — на 4 log₁₀ (99,99%). Высокая водорастворимость 845-3, вероятно, способствует его более эффективному транспорту через трегалозные пермеазы и накоплению в бактериальных клетках.

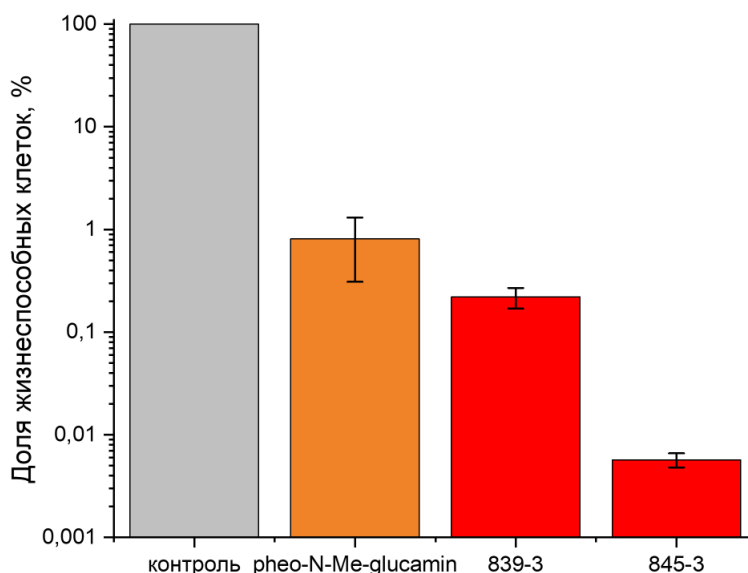


Рис.2 Количество жизнеспособных клеток после облучения за 24 часа инкубации с ФС.

Трегалозные конъюгаты обеспечивают селективную доставку как гидрофобных, так и гидрофильных фотосенсибилизаторов в микобактерии, причём водорастворимый конъюгат 845-3 демонстрирует наибольшую эффективность (инактивация на 4 log₁₀). Это открывает возможность создания высокоселективной ФДТ для лечения лекарственно-устойчивых микобактериозов с минимальным риском повреждения клеток хозяина.

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 24-15-00221).

Литература

1. Babu Sait M. R. и др. PPE51 mediates uptake of trehalose across the mycomembrane of *Mycobacterium tuberculosis* // Sci. Rep. 2022. Т. 12. № 1. С. 2097.
2. Liang J. и др. Molecular recognition of trehalose and trehalose analogues by *Mycobacterium tuberculosis* LpqY-SugABC // Proc. Natl. Acad. Sci. 2023. Т. 120. № 35. С. e2307625120.

УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИЕ БИОПОЛИМЕРЫ МОРСКИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ: СТРУКТУРНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, РОЛЬ В АДАПТАЦИИ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

М.С. Кокоулин¹, А.С. Кузьмич¹, В.С. Белова¹, А.П. Фильштейн¹, П.В. Шитова^{1,2}, К.В. Исаева^{1,2}, Ю.В. Савичева¹, М.П. Исаева¹, Л.А. Романенко¹

¹ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия, maxchem@mail.ru

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Россия

Морская среда представляет собой сложную экосистему с огромным разнообразием форм жизни, среди которых значительную долю составляют грамотрицательные бактерии. Морские микроорганизмы используют различные адаптивные стратегии для выживания и размножения в морской среде, которые в основном определяются особенностями строения их клеточных стенок. Внешняя мембрана клеточной стенки грамотрицательных бактерий, как правило, состоит из липополисахаридов (ЛПС) — амфифильных макромолекул, закрепленных в фосфолипидном бислое. Структура ЛПС играет важную роль в целостности, гибкости и текучести клеточной стенки грамотрицательных бактерий, а также имеет решающее значение для нормальной физиологии и роста микроорганизмов. Кроме того, некоторые бактерии могут продуцировать внеклеточные полисахариды.

Бактериальные внеклеточные полисахариды обычно встречаются в двух формах: в виде капсульных полисахаридов (КПС), если они ассоциированы с клеточной поверхностью, и полисахаридов, высвобождающихся в окружающую среду (экзополисахариды, ЭПС).

За последние несколько лет нами были выделены и установлены структуры КПС, ЛПС и липоолигосахаридов (ЛОС) ряда представителей морских грамотрицательных бактерий, относящихся к родам *Cellulophaga*, *Cobetia*, *Devosia*, *Echinicola*, *Halomonas*, *Idiomarina*, *Kangiella*, *Marinicella*, *Oceanisphaera*, *Poseidonocella*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Rheinheimera*, *Simiduia*, *Vibrio* и др. В их составе было обнаружено множество редких моносахаридных остатков и неуглеводных заместителей, в том числе ранее не встречавшихся в природе. Были получены приоритетные сведения о том, что морские микроорганизмы способны продуцировать сульфатированные углеводсодержащие биополимеры, большинство из которых проявляют ярко выраженные антипролиферативные свойства. Проведена аннотация генов, кодирующих ферменты биосинтеза сульфатированных полисахаридов у отдельных представителей морских грамотрицательных бактерий. Идентификация ключевых генов, ответственных за сборку олигосахаридных повторяющихся единиц, их сульфатирование и последующий экспорт полимерной цепи, позволяет реконструировать пути биосинтеза данных биополимеров и предсказывать потенциал штаммов к их биосинтезу.

Изучен механизм избирательного антипролиферативного действия полисахаридов из микроорганизмов *Kangiella japonica* КММ 3897 и *K. japonica* КММ 3899^T в отношении клеток протоковой карциномы молочной железы линии Т-47D. Полисахариды индуцируют арест клеточного цикла и митохондриально-зависимый апоптоз в крайне низких для полисахаридов концентрациях. Сульфатированный полисахарид из *Cobetia marina* КММ 3878 индуцирует апоптоз в клетках острого промиелоцитарного лейкоза человека (линия HL-60), активируя как внутренний, так и внешний пути гибели клетки.

Проведено структурное и иммунобиологическое исследование липидов А в составе ЛПС и ЛОС отдельных представителей морских грамотрицательных бактерий. Установлено, что липиды А исследованных микроорганизмов демонстрируют значительное структурное разнообразие, проявляющееся в различной степени фосфорилирования, ацилирования, а также в присутствии неканонических структурных особенностей — дополнительных моносахаридных остатков на диглюкозаминном остове. Иммунобиологические исследования на различных клеточных моделях показали, что для подавляющего большинства изученных ЛПС и ЛОС характерна слабая агонистическая активность в отношении толл-подобного рецептора 4 (TLR4) в сочетании с выраженным антагонистическим действием по отношению к классическим эндотоксинам, что позволяет рассматривать данные соединения как перспективные модуляторы врождённого иммунитета.

Таким образом, исследование углеводсодержащих биополимеров морских грамотрицательных бактерий, безусловно, является фундаментальной отправной точкой не только для понимания адаптационных молекулярных механизмов, но и для разработки новых медицинских и ветеринарных препаратов, в том числе средств адресной доставки.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (грант № 15.BRK.25.14, соглашение № 075-15-2025-467).

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ НА РОСТ И РИЗОГЕНЕЗ МИКРОПОБЕГОВ СИРЕНИ ПРИ ИХ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ *IN VITRO*

А.А. Криницына^{1*}, Е.А. Цавкелова¹, О.А. Чурикова¹

¹МГУ имени М.В.Ломоносова, Москва, *e-mail: ankrina@gmail.com

Микроорганизмы, ассоциированные с растениями, обычно безвредны для хозяев, а многие из них стимулируют рост и развитие растений: улучшают минеральное питание, ослабляют воздействие патогенов и повышают устойчивость к ним, усиливают адаптационные свойства и иммунитет. Такие штаммы, виды и роды бактерий образуют функциональную группу *plant growth-promoting bacteria* (PGPB). Особое значение среди них имеют эндофитные бактерии, которые оказывают прямое влияние на растения-хозяина — фиксируют азот, продуцируют сидерофоры, солюбилизируют фосфаты и синтезируют стимуляторы роста [Lodewyckx et al., 2002; Tsavkelova et al., 2006; Santoyo et al., 2016; Compant, 2021]. Подобная активность эндофитов и других PGPB вызывает активный интерес со стороны агробиотехнологии и применения таких штаммов в современном сельском хозяйстве.

Биотехнологический аспект изучения микробно-растительных взаимодействий направлен, прежде всего, на выделение функционально-активных чистых культур, а также микробных сообществ, обладающих рост-стимулирующими свойствами, либо на получение отдельных биологически активных соединений и ферментов. Многие штаммы PGPB, изолированные из различных частей растений, активно продуцируют растительные гормоны ауксинового ряда, например, индолил-3-уксусную кислоту (ИУК), которая играет ключевую роль в развитии растений, формировании и росте боковых корней, передаче сигналов и устойчивости к стрессу и пр. [Lodewyckx et al., 2002]. Такие штаммы применяют не только для обработки семян и рассады с целью стимуляции прорастания в почве (бактеризация), но и в культуре *in vitro* — при микроклональном размножении и сохранении редких, исчезающих видов или гибридов, для улучшения роста, повышения устойчивости к стрессовым факторам и адаптации растений к окружающей среде [Tsavkelova et al., 2024; Das et al., 2024]. Ранее при исследовании биоразнообразия бактерий, обитающих в филоплане, в том числе на поверхности почек сортов сирени обыкновенной из коллекции Ботанического сада МГУ, были получены чистые культуры 4 штаммов PGPB, которые продемонстрировали триптофан-зависимый биосинтез ауксина, принадлежащие к родам *Priestia*, *Methylobacterium*, *Aureimonas* и *Paenibacillus* [Tsavkelova et al., 2024].

Целью работы являлось оценить эффективность использования некоторых, в том числе, выделенных и идентифицированных ранее [Tsavkelova et al., 2024] ауксин-продуцирующих штаммов бактерий при микроклональном размножении сирени *in vitro*. Для этого микропобеги сирени сортов «Великая Победа» и «П.П. Кончаловский», полученные в результате микроклонального размножения, культивировали совместно со штаммами *Methylobacterium* sp., *Paenibacillus* sp. и *Chryseomicrobium* sp. Использовали полутвердую половинную среду Мурасиге-Скуга со сниженным в 4 раза содержанием аммонийного азота (компенсированного нитратной формой), с добавлением 10 г/л сахарозы, без экзогенных гормонов ($\frac{1}{2}$ LN-MS). Поскольку у штаммов был показан триптофан-зависимый биосинтез ИУК, в среду после холодной стерилизации добавили L-триптофан (200 мкг/л). Контрольная среда ($\frac{1}{2}$ LN-MS) не содержала бактерий и фитогормонов. Локализацию бактерий на поверхности и в тканях микропобегов изучали с помощью СЭМ (Jeol, Japan) согласно [Tsavkelova et al., 2024]. Влияние состава среды и кокультивирования с PGPB на ризогенез анализировали по анатомическим срезам базальной части побегов под световым микроскопом Axioplan-2.

Первой ответной реакцией на присутствие ауксин-продуцирующих штаммов было формирование через 7–10 дней в месте контакта микропобегов обоих сортов с питательной средой зеленовато-белого каллуса. На срезах отмечены ранние очаги и тяжи меристематических клеток, дающих впоследствии начало проводящим элементам. Анатомический анализ базальных частей микропобегов обоих сортов, культивированных со всеми тремя штаммами в течение 40 дней, показал образование придаточных корней из камбиальных клеток вблизи флоэмных элементов центрального цилиндра. На поперечных и продольных срезах отмечено формирование корневых зачатков и молодых ветвящихся корней нормального строения с корневыми волосками, прорастающих через первичную

кору. При сравнении трёх штаммов наиболее активная ранняя дифференциация и развитие корней проявлялись в присутствии штамма *Paenibacillus* sp. На контрольной среде образования корней не наблюдали. Формирование обширных меристематических зон, дифференциация проводящих элементов, а также активный процесс ризогенеза, вероятнее всего, являются ответом на повышение уровня ауксина, продуцируемого бактериями.

Таким образом, предложенный нами способ бактеризации растений ассоциированными симбиотическими бактериями в культуре *in vitro* на модифицированных средах с пониженным содержанием аммонийного азота, демонстрирует двойную эффективность не только в качестве источника ауксинов, стимулирующих укоренение микропобегов растений без внесения фитогормонов, но также представляет собой перспективный подход для конструирования искусственной системы холобионта «растение-микроорганизм». Совместное культивирование с симбиотическими штаммами кроме функциональной активации процесса ризогенеза может обеспечивать последующую успешную адаптацию растений при пересадке на субстрат или в почву, сохраняя долгосрочную устойчивость и высокую их адаптационную способность, что особенно важно для редких сортов или видов растений.

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ имени М.В.Ломоносова

Литература

Compant S., Cambon M.C., Vacher C., Mitter B., Samad A., Sessitsch A. The plant endosphere world—bacterial life within plants // *Environ Microbiol.* 2021. Vol. 23. № 4. P. 1812-1829.

Das S. Synergistic role of plant tissue culture and plant growth-promoting micro-organisms as conservation strategies for Himalayan medicinal plants amidst climate change / Das S., Shukla S., Debnath S., Kalyani M.I. // *Threatened medicinal plants in the Indian Himalayan region.* / Eds. Mishra A.P., A Kumar A., Chandra N., Singh G., CB Pande C.B. World sustainability Series. Springer, Cham. 2024. P. 133-165.

Lodewyckx C., Vangronsveld J., Porteous F., Moore E.R.B., Taghavi S., Mezgeay M. et al. // *Endophytic bacteria and their potential applications* // *Crit. Rev. Plant Sci.* 2002. Vol. 21. P. 583–606.

Santoyo G., Moreno-Hagelsieb G., del Carmen Orozco-Mosqueda M., Glick B.R. Plant growth-promoting bacterial endophytes // *Microbiol Res.* 2016. Vol. 183. P. 92-99.

Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review // *Applied biochemistry and microbiology.* 2006. Vol. 42. № 2. P. 117-126.

Tsavkelova E.A., Churikova O.A., Volynchikova E.A., Sapun S.S., Leontieva M.R., Speranskaya A.S., Konorov E.A., Krinitsina A.A. Plant-associated bacteria of *Syringa vulgaris* L. in an urban environment // *PlantSoil.* 2024. Vol. 497. № 1. P. 585-610.

СТИМУЛИРОВАНИЕ РОСТА РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ

Л.А. Кульбаева¹, Е.В. Кузина¹, М.Г. Искужина¹, С.Р. Мухаматдьярова¹, Г.Ф. Рафикова¹, Т.Ю. Коршунова¹

¹Уфимский Институт биологии УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия, l.kulbaeva@mail.ru

Засоление почв является одной из основных проблем современного сельского хозяйства. Такого рода загрязнение оказывает пагубное воздействие на рост и продуктивность растений и отрицательно влияет на функционирование почвенного микробиоценоза [Li, 2024]. Одним из доступных методов повышения устойчивости растений к засолению является применение ризобактерий, стимулирующих рост растений [Hamid, 2021]. Особый интерес представляют пленкообразующие галотолерантные бактерии, однако их влияние на растения изучено недостаточно.

В качестве объекта исследования была выбрана суданская трава (*Sorghum × drummondii*), отличающаяся высокой адаптивностью к неблагоприятным условиям среды. Цель исследования – оценить влияние пленкообразующих галотолерантных бактерий на рост и биохимические показатели суданской травы в условиях засоления почвы.

Вегетационный опыт проводили на черноземе оподзоленном, загрязненном NaCl (0,25%), с использованием суданской травы сорта Чишминская ранняя. Пророщенные семена инокулировали культуральной жидкостью бактерий штамма *Pseudomonas hunanensis* C7 (10^5 КОЕ/мл), контрольные семена обрабатывали дистиллированной водой. Растения выращивали при температуре 23–25°C и 14-часовом фотопериоде. Через 10 суток определяли содержание хлорофилла и малонового диальдегида (МДА), индекс азотного баланса (NBI). Хлорофилл и NBI измеряли с помощью анализатора DUALEX, содержание МДА – спектрофотометрически [Costa, 2024]. По окончании эксперимента оценивали ростовые показатели растений: длину, сырую и сухую массу побега, длину и ширину листьев. Полученные результаты обрабатывали методом ANOVA с использованием теста Дункана ($p \leq 0,05$).

Обработка семян суданской травы штаммом *P. hunanensis* C7 оказывала выраженное положительное влияние на рост растений как в нормальных условиях, так и при засолении почвы NaCl (таблица 1). Под действием соли длина побегов уменьшалась на 26,8% по сравнению с контролем, тогда как инокуляция штаммом C7 способствовала увеличению данного показателя: на 14,3% в незасоленной почве и на 18,4% в условиях солевого стресса. Аналогичный эффект наблюдался и при анализе параметров листьев. Засоление значительно снижало длину и ширину первых трёх листьев, особенно третьего, длина и ширина которого уменьшались на 42,5 и 35,8% соответственно. Однако у растений, обработанных штаммом C7, показатели первого и второго листьев в присутствии соли практически соответствовали контролю, а снижение размеров третьего листа было менее выраженным. В целом установлено, что NaCl вызывал уменьшение сырой и сухой массы побегов в 1,6–1,8 раза, тогда как бактериализация способствовала увеличению этих показателей на 35,7 и 14,9% соответственно по сравнению с вариантом без обработки бактериями.

Вероятно, защитное действие штамма обеспечивается комплексом факторов, а именно связано с его способностью синтезировать, индолил-3-уксусную кислоту, стимулирующую развитие корневой системы растений, а также с образованием штаммом C7 биоплёнки, полимерный матрикс которой позволяет связывать избыток ионов натрия и поддерживать ионный гомеостаз клеток.

Таблица 1. Морфометрические показатели растений суданской травы

Вариант опыта	Длина побега (см)	Сырая масса побега (мг) / Сухая масса побега (мг)	Длина листьев (см) / Ширина листьев (мм)			
			I	II	III	IV
Контроль	14,00 ± 0,64	<u>105,71 ± 6,25</u> 15,01 ± 0,87	<u>2,86 ± 0,13</u> 3,57 ± 0,17	<u>7,43 ± 0,39</u> 3,00 ± 0,16	<u>10,00 ± 0,59</u> 3,71 ± 0,20	<u>2,50 ± 0,12</u> 1,50 ± 0,09
C7	16,00 ± 0,82	<u>107,50 ± 5,30</u> 16,93 ± 0,76	<u>3,00 ± 0,18</u> 4,38 ± 0,24	<u>9,38 ± 0,45</u> 3,00 ± 0,12	<u>10,38 ± 0,45</u> 4,25 ± 0,28	<u>3,00 ± 0,11</u> 1,50 ± 0,07
NaCl	10,25 ± 0,53	<u>60,00 ± 3,59</u> 9,34 ± 0,40	<u>2,13 ± 0,19</u> 3,75 ± 0,18	<u>6,13 ± 0,34</u> 2,50 ± 0,13	<u>5,75 ± 0,28</u> 2,38 ± 0,14	–

NaCl + C7	12,14 ± 0,68	<u>81,43 ± 5,05</u> 10,74 ± 0,56	<u>2,71 ± 0,11</u> 3,86 ± 0,23	<u>7,14 ± 0,33</u> 3,14 ± 0,18	<u>7,57 ± 0,38</u> 3,29 ± 0,15	—
--------------	-----------------	-------------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------	-----------------------------------	---

Примечание. I, II, III, IV – первый лист, второй лист и т.д., «—» лист отсутствует

Солевой стресс оказывал значительное влияние на физиолого-биохимическое состояние растений. Несмотря на отсутствие выраженных признаков хлороза, содержание хлорофилла в листьях суданской травы снижалось на 19,2% относительно контроля (таблица 2). Добавление бактерий *P. hunanensis* C7 не приводило к существенному увеличению концентрации общего хлорофилла, однако способствовало повышению значения азотного индекса NBI на 23,3%. Данный показатель отражает обеспеченность растений азотом и свидетельствует о положительном влиянии RGP-бактерий на поддержание физиологического гомеостаза растений в условиях абиотического стресса. Под воздействием NaCl в растительных клетках усиливались процессы окислительного стресса, что сопровождалось увеличением содержания МДА на 19,0%. В то же время в варианте с инокуляцией уровень МДА оставался на уровне контроля, что указывает на снижение интенсивности повреждения клеточных мембран и антистрессовое действие штамма *P. hunanensis* C7.

Таблица 2. Биохимические показатели растений суданской травы

Вариант опыта	Хлорофилл (a+b) (мкг/см ²)	NBI	МДА (мкмоль/г)
Контроль	18,71 ± 1,13	30,55 ± 1,75	48,77 ± 2,45
C7	18,39 ± 0,87	37,66 ± 1,84	49,12 ± 2,57
NaCl	15,11 ± 0,78	31,89 ± 1,37	58,06 ± 2,93
NaCl + C7	16,09 ± 0,89	39,31 ± 2,04	43,96 ± 2,29

Полученные в вегетационном опыте результаты доказывают, что растения суданской травы способны адаптироваться к солевому стрессу за счёт регуляции метаболических процессов, однако использование пленкообразующих галотолерантных RGP-бактерий обеспечивает дополнительную защиту и повышает устойчивость растений. Предполагается, что биопрепараты на основе таких микроорганизмов могут быть перспективны для применения в условиях прогрессирующего засоления почв.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда № 25-24-00879, <https://rscf.ru/project/25-24-00879/>.

Литература

- Costa H., Gallego S.M., Tomaro M.L. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons // Plant Sci. 2002. Vol. 162. P. 939–945. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00051-1](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00051-1)
- Hamid B., Zaman M., Farooq S., Fatima S., Sayyed R. Z., Baba Z. A., Sheikh T. A., Reddy M. S., Enshasy H. E., Gafur A., Suriani N. L. Bacterial plant biostimulants: a sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops // Sustainability. 2021. Vol. 13. Art. № 2856. DOI: 10.3390/su13052856
- Li Y., Li W., Jiang L., Li E., Yang X., Yang, J. Salinity affects microbial function genes related to nutrient cycling in arid regions // Frontiers in Microbiology. 2024. Vol. 15. Art. № 1407760. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1407760.

БАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ МОНОТЕРПЕНОИДОВ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

П.Ю. Мальцева^{1,2}, Н.А. Плотницкая^{1,2}, И.Б. Ившина^{1,2}

¹ Пермский федеральный исследовательский центр УрО РАН, г. Пермь,
luchnikova.n@mail.ru, ivshina@iegm.ru

² Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь,
inbox.98@bk.ru

В условиях дефицита высокоэффективных фармакологических средств для лечения социально значимых заболеваний актуален синтез новых соединений с биологической активностью на основе растительных монотерпеноидов. В качестве исходного субстрата активно используется монотерпеновый спирт (–)-изопулегол ($C_{10}H_{18}O$, CAS 89-79-2), химическая трансформация которого позволяет получать соединения с противовирусной, обезболивающей и антипролиферативной активностью [Le, Szakonyi, 2022]. Биокатализ, в отличие от химических методов, обеспечивает получение целевых продуктов без применения дорогостоящих катализаторов и агентов защиты реакционно-активных центров молекулы в экологически безопасных условиях. Одной из широко разрабатываемых в биотехнологии групп микроорганизмов являются бактерии рода *Rhodococcus*, характеризующиеся большим разнообразием трансформируемых труднодоступных соединений [Ivshina et al., 2017].

Цель настоящей работы – изучение способности коллекционных штаммов *Rhodococcus* spp. к трансформации монотерпеноида (–)-изопулегола для получения соединений с выраженной биологической активностью.

На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, номер 285 во Всемирной федерации коллекций культур, УНУ/ЦКП 73559/480868, <http://www.iegmcol.ru>) отобран штамм *R. rhodochrous* ИЭГМ 1362, катализирующий конверсию (–)-изопулегола с образованием двух не описанных ранее производных: (1R,2S,5R)-5-(гидроксиметил)-2-(проп-1-ен-2-ил)циклогексанола и (1R,3R,4S)-3-гидрокси-4-(проп-1-ен-2-ил)циклогексанкарбоксильной кислоты. По данным проведенного компьютерного прогнозирования на основе взаимосвязи «структура-активность», полученные нами метаболиты менее токсичны по сравнению с исходным субстратом и перспективны в качестве потенциальных респираторных аналептиков и противоопухолевых агентов.

Всесторонние исследования адаптационных механизмов родококков на воздействие (–)-изопулегола показали, что в использованной концентрации монотерпеноид не оказывал выраженного влияния на морфологию и жизненные процессы бактериальных клеток.

Разработан эффективный биокатализатор на основе иммобилизованных в матрицу криогеля на основе поливинилового спирта клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 1362 для получения физиологически активных производных (–)-изопулегола. Использование устойчивого иммобилизованного биокатализатора увеличивает общий выход целевых продуктов с 54% (свободные клетки) до 87% (иммобилизованные клетки) за один цикл, сохраняя высокую функциональную активность в течение 13 циклов эксплуатации.

Установлено, что ключевые ферментные комплексы, участвующие в биотрансформации (–)-изопулегола, с большой вероятностью локализованы в цитоплазме бактериальных клеток и принадлежат к семейству CYP450-зависимых оксигеназ. С использованием количественной ПЦР в реальном времени и цифровой ПЦР выявлено индуцированное присутствием (–)-изопулегола повышение экспрессии гена, кодирующего цитохром P450 гидроксилазу, что свидетельствует о значимой роли данного фермента в биотрансформации.

Полученные данные расширяют представление о биотехнологическом потенциале актиномицетов рода *Rhodococcus* и свидетельствуют о перспективности их использования

для биотрансформации (–)-изопулегола с целью получения новых биологически активных соединений.

Исследования выполнены за счет гранта Российского научного фонда № 24-14-20015, а также при использовании оборудования ЦКП «Региональная профилированная коллекция алканотрофных микроорганизмов» Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН.

Литература

Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Krivoruchko A.V. Hydrocarbon-oxidizing bacteria and their potential in eco-biotechnology and bioremediation // In Microbial Resources; ed. by I. Kurtboke. Elsevier. 2017. P. 121–148.

Le T.M., Szakonyi Z. Enantiomeric isopulegol as the chiral pool in the total synthesis of bioactive agents // Chemical Record. 2022. Vol. 22. P. 1–32.

ADAPTIVE RESPONSE OF SCOBY TO YEAST EXTRACT AND TRYPTONE AS NITROGEN SOURCES DURING BACTERIAL CELLULOSE SYNTHESIS

E.I. Mikheeva^{1, 2}

¹ byScoby LLC, Saint Petersburg, byscoby@yandex.ru

² Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Ekaterina.Mikheeva@skoltech.ru

Introduction. Bacterial cellulose (BC), a type of extracellular polymer composed of glucose, has gained significant attention due to its unique nanofibrillar structure, high crystallinity, exceptional mechanical strength, and biocompatibility. These properties make it a promising material for a wide range of applications, including functional textiles, biomedical engineering, and sustainable packaging [Cazón et al., 2021; Kumaravel et al., 2025]. Among the available production strategies, the symbiotic culture of bacteria and yeasts, known as the symbiotic culture of bacteria and yeasts (SCOBY), offers a cost-effective and straightforward approach. SCOBY can convert inexpensive, low-cost substrates into bacterial cellulose, eliminating the need for sterile conditions and expensive media [Absharina et al., 2026].

The type and concentration of the nitrogen source influence cellulose biosynthesis. In pure cultures of *Komagataeibacter*, the use of complex supplements like yeast extract and protein hydrolysates can enhance the production of cellulose at moderate levels, while excessive amounts of nitrogen can divert carbon towards biomass rather than polysaccharide production [Cazón et al., 2021; Absharina et al., 2026]. For instance, the use of nitrogen sources derived from agricultural products can increase the yield of cellulose by up to 40% compared to media containing peptone [Absharina et al., 2026], illustrating the sensitivity of the cellulose-producing machinery to the composition of nitrogen.

The SCOBY consortium, however, is a stable symbiotic consortium in which yeasts and bacteria share amino acids, vitamins, and organic acids. This inherent nitrogen economy implies that exogenous nitrogen may trigger reactions that differ from those in axenic cultures. Despite the increasing use of SCOBY for BC production, there is a lack of comprehensive data on the impact of isolated nitrogen supplements on the entire SCOBY. Therefore, this study aimed to investigate the effect of yeast extract and tryptone, two commonly used nitrogen sources, at three different concentrations, to determine whether the consortium exhibits adaptive tolerance, dose-dependence, or inhibition.

Materials and Methods. The basal medium consisted of a tea infusion prepared by steeping 5 g of black tea in 500 mL of boiling water, followed by dissolution of 50 g of sucrose. After cooling, the medium was then distributed into culture vessels, each containing 500 g of the infusion. Yeast extract or tryptone was added to the vessels at three dose levels: 5.0 g, 7.5 g, and

10.0 g per vessel, corresponding to approximately 10, 15, and 20 g/L. The control vessels did not receive any additional nitrogen. All vessels were inoculated with 35 g of a homogenized SCOBY pellicle obtained from a previous fermentation batch. The static cultivation was carried out at 22–25 °C for a period of 5 to 12 days, depending on the visual development of the pellicle. At the end of fermentation, the BC films were harvested, rinsed with distilled water, and then purified: treatment with a 0.1 M NaOH at 80 °C for 2 h to remove any microbial cells or debris, followed by rinsing with deionized water until neutrality. The purified cellulose films were then dried at 60 °C to constant mass and weighed gravimetrically.

Results. In the absence of nitrogen, the SCOBY consortium formed uniform, transparent, and cohesive pellicles that covered the air–liquid interface. The dry weight of the purified BC obtained from eight control samples varied from 88.7 g to 121.9 g, with a median value of 97.3 g. This variability reflects the inherent biological heterogeneity of the consortium, minor variations in the composition of the tea, and differences in the age of the inoculum. However, it also confirms the ability of SCOBY to produce cellulose in the basal sucrose-tea medium.

The addition of tryptone resulted in a clear dose-dependent inhibition of BC production. At the lowest dose of 5.0 g per 500 g of medium, the yield dropped to 20.6 g, and the resulting pellicle was much thinner and less robust than the control. When the tryptone amount was increased to 7.5 g and 10.0 g, no coherent pellicle formed; the limited amount of cellulose present could not be recovered as a continuous film and was not measurable.

The yeast extract had a more severe effect. At all three concentrations tested, only very fragile, fragmentary films were observed. These films disintegrated during the purification and washing processes, making any gravimetric analysis impossible. The observations suggest a nearly complete inhibition of BC assembly in the presence of yeast extract, with no noticeable dose-dependent effect within the tested range. In cases where pH measurements were recorded, the values in the control and tryptone-containing vessels gradually decreased from an initial range of 5.0–6.0 to 3.0–2.5, indicating active fermentation and the production of organic acids. No macroscopic pellicle was observed.

Conclusion. Both tryptone and yeast extract, when used at concentrations routinely used to support bacterial cellulose production in pure cultures of *Komagataeibacter*, strongly inhibited the SCOBY consortium. Tryptone reduced the yield in a dose-dependent manner, with complete suppression occurring at concentrations above 10 g/L. Yeast extract prevented the formation of the pellicle at all tested levels. The absence of a visible pellicle suggests that the metabolic carbon flow was redirected away from biosynthesis, possibly towards enhanced cell growth or alternative metabolic pathways. This previously unreported response contrasts with the stimulatory effects observed in axenic *Komagataeibacter* fermentations [Cazón et al., 2021; Absharina et al., 2026]. It is likely arises from disruption of the symbiotic equilibrium.

The results highlight the importance of developing nitrogen-specific strategies for SCOBY rather than adopting pure-culture protocols. Even low-yield BC produced under nitrogen stress can be utilized through downstream processing [Mikheeva et al., 2024]. Future research will focus on the molecular basis of the inhibition and on identifying nitrogen formulations that maintain symbiotic balance and maximizing cellulose production.

References

- Absharina D., Veres C., Kedves A. et al. Enhanced bacterial cellulose production by *Komagataeibacter xylinus* using agro-derived flour nitrogen sources // *Appl Microbiol Biotechnol*. 2026. Vol. 110. No. 47.
- Cazón P., Vázquez M. Bacterial cellulose as a biodegradable food packaging material: A review // *Food Hydrocolloids*. 2021. Vol. 113. No. 106530.
- Kumaravel A., Lin S., Santoso S.P. et al. Unlocking the potential of bacterial cellulose: synthesis, functionalization, and industrial impact // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2025. Vol. 311. No. 143951.
- Mikheeva E.I., Kuranova M.A., Gorokhova A.A. Downstream process for modified bacterial cellulose production with an increased functional properties for textile industry // *XI International*

METABOLIC PLASTICITY OF SCOBY IN THE UTILIZATION OF MALTOSE AND STARCH AS THE BASIS FOR ADAPTIVE SYNTHESIS OF BACTERIAL CELLULOSE

E.I. Mikheeva^{1, 2}

¹ byScoby LLC, Saint Petersburg, byscoby@yandex.ru

² Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Ekaterina.Mikheeva@skoltech.ru

Introduction. Bacterial cellulose, also known as BC, is a valuable extracellular polysaccharide with a unique nanofibrillar structure, high crystallinity, and excellent biocompatibility. These properties make it a versatile material for use in functional textiles, biomedicine, and sustainable packaging [Gregory et al., 2021].

One of the most promising methods for producing BC is through the symbiotic culture of bacteria and yeasts, commonly known as SCOBY, which is derived from kombucha fermentation. This approach allows for the production of BC using non-sterile, nutrient-rich substrates such as sweetened tea, making it a cost-effective and sustainable option. The economic feasibility of BC production can be substantially enhanced by substituting expensive refined sugars with inexpensive carbohydrate sources, particularly industrial and agricultural wastes rich in starch or its derivatives [Islam et al., 2017; Kadier et al., 2021].

In the SCOBY consortium, yeasts naturally secrete amylases that hydrolyse starch into maltose and glucose, while acetic acid bacteria oxidize the resulting monosaccharides and convert them into cellulose. This enzymatic complementarity suggests that the consortium possesses inherent metabolic plasticity and should be capable of sustaining BC synthesis when maltose or starch is provided as supplementary carbon sources. However, there is a dearth of quantitative data on the effect of these alternative carbohydrates on the overall yield of BC in whole SCOBY cultures.

This study examines the impact of maltose and soluble starch, two readily available and inexpensive carbohydrates, on the production of bacterial cellulose by a kombucha-derived SCOBY. The goal is to evaluate the metabolic plasticity of the consortium and to determine whether these substrates can support the production of bacterial cellulose at levels comparable to a standard sucrose-based medium.

Materials and Methods. A basal medium was prepared by adding 5 g of black tea to 500 mL of boiling water and dissolving 50 g of sucrose. Each culture vessel contained 500 g of this medium. The experimental variants involved adding maltose (5 g per vessel) or soluble starch at four different concentrations: 10 g, 25 g, 40 g, and 50 g per vessel. The control cultures did not receive any additional carbohydrates. All vessels were inoculated with approximately 35 g of a homogenized SCOBY pellicle obtained from a previous batch. The fermentation process was conducted in a static manner at 22–25 °C for 5–12 days. At the end of the cultivation, the BC pellicles were harvested, thoroughly washed, and treated with a 0.1 M NaOH solution at 80°C for 2 h, rinsed until neutrality, and dried at a constant temperature of 60°C until they reached a constant mass. The dry weight of the BC was determined gravimetrically.

Results. In the absence of supplementary carbohydrates, the SCOBY consortium consistently formed cohesive, translucent pellicles. The dry weight of the purified BC from the independent control replicates varied between approximately 94 and 124 g, with a median around 106 g. This variation is a result of the inherent biological heterogeneity of the consortium and slight variations in the composition of the tea, confirming a strong baseline productivity. The addition of 5.0 g of maltose resulted in a BC dry mass of 100.9 g, which is within the control range. This suggests that the consortium can assimilate maltose without any negative impact on cellulose production.

When soluble starch was supplied at 10.0 g, 25.0 g, 40.0 g, and 50.0 g, the BC yields remained remarkably consistent: 100.3 g, 100.4 g, 100.0 g, and 100.2 g, respectively. There was no discernible dose-response trend, and all values were statistically equivalent to the control median. This stability indicates that the SCOBY consortium can utilize starch as a supplementary carbon source without compromising cellulose production.

Conclusion. The data obtained suggest that the SCOBY consortium exhibits a metabolic plasticity of the consortium toward alternative carbon sources. Neither maltose nor soluble starch, even in high concentrations (up to 100 g/L), negatively impact the production of bacterial cellulose. Instead, the system maintains a steady BC output, which is virtually identical to the output achieved on the standard sucrose-based medium. This adaptive response contrasts with the known sensitivity of the same consortium to nitrogen-rich supplements, indicating a distinct regulation of carbon and nitrogen metabolic pathways within the symbiotic consortium.

From a practical standpoint, the capacity to partially substitute sucrose with more affordable starch-based substrates without compromising productivity provides a straightforward route for cost reduction in BC production, in line with the strategies for valorizing waste [Kadier et al., 2021; Islam et al., 2017]. The resulting cellulose, even if produced under non-standard carbon conditions, retains sufficient structural integrity for further processing. In this context, the downstream process for enhancing the functional properties of BC for textile applications is particularly relevant: it could be directly applied to valorize pellicles obtained from starch-supplemented fermentations [Mikheeva et al., 2024]. Future research will focus on deciphering the enzymatic processes of starch hydrolysis within the consortium, quantifying the expression of cellulose synthase genes under varying carbohydrate loads, and scaling up the approach to confirm industrial feasibility.

References

Gregory D.A., Tripathi L., Fricker A.T.R. et al. Bacterial cellulose: A smart biomaterial with diverse applications // *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2021. Vol. 145. No. 100623.

Islam M.U., Ullah M.W., Khan S. et al. Strategies for cost-effective and enhanced production of bacterial cellulose // *Int J Biol Macromol*. 2017. Vol. 102. P. 1166-1173.

Kadier A., Ilyas R.A., Huzaifah M.R.M. et al. Use of Industrial Wastes as Sustainable Nutrient Sources for Bacterial Cellulose (BC) Production: Mechanism, Advances, and Future Perspectives // *Polymers*. 2021. Vol. 13. No. 3365.

Mikheeva E.I., Kuranova M.A., Gorokhova A.A. Downstream process for modified bacterial cellulose production with an increased functional properties for textile industry // *XI International Conference of Young Scientists: Bioinformatics, Biotechnologists, Biophysicists, Virologists, Molecular Biologists and Specialists in Fundamental Medicine*, Novosibirsk. 2024. P. 92.

АДАПТАЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ АССОЦИАТИВНОЙ КУЛЬТУРЫ НА ОСНОВЕ МЕТАНОКИСЛЯЮЩИХ БАКТЕРИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

П.А.Нюньков, М.В.Лалова, Е.С.Бабусенко, В.В.Цымбал
ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ», Москва, babusenko.e@gibios.ru

Метаноокисляющие бактерии (метанотрофы) – уникальная группа, способная использовать метан в качестве единственного источника, как углерода, так и энергии. Эти бактерии применяют для производства кормового белка с использованием метана природного газа. Высокое содержание белка в биомассе и соотношение аминокислот, схожее с рыбной мукой, позволяют использовать её как белковая добавку к кормам. Стабильное непрерывное культивирование возможно при использовании ассоциативной культуры метаноокисляющих бактерий и гетеротрофных микроорганизмов - спутников, использующих продукты окисления гомологов метана и выделяемых метаболитов. Эти

микроорганизмы сосуществуют в синтрофной ассоциации – состоянии совместного симбиоза и характеризуются различными механизмами микробной аккумуляции.

Цель работы – комплексный генетический анализ бактериальных метанотрофных консорциумов, полученных при различных условиях культивирования.

Исследовали следующие метагеномные образцы: суспензия чистой культуры *Methylococcus capsulatus* ГБС-15, культивируемая на чистом метане (ферментер объемом 10 л); суспензия ассоциативной культуры через 20 часов, 10, 20 и 30 суток культивирования (ферментер объемом 10 л); суспензия ассоциативной культуры, отобранная из ферментера объемом 3 м³ после 30 суток культивирования; суспензия ассоциативной культуры, отобранная из ферментера объемом 200 л после 30 суток культивирования с 50%-ным возвратом отработанной культуральной жидкости (ОКЖ).

Полногеномное секвенирование метагеномных образцов осуществлено на платформе MGI (MGI Tech Co., Ltd), Lt, с использованием наборов MGIEasy FS DNA Library Prep Kit и MGI-Seq 2000RS High-throughput sequencing kit PE200, согласно рекомендациям производителя.

В результате полногеномного секвенирования сформировано по два архива сырых ридов для каждого образца. Для обработки данных полногеномного секвенирования образцов использовали программное обеспечение для анализа метагеномных образцов: Kraken Metagenomics v2 (классификатор нуклеотидных последовательностей). Результаты таксономической классификации парных ридов (R1 и R2) визуализированы и представлены в виде интерактивных html-страниц.

Преобладающим видом в ассоциациях являлся метанотроф *M. capsulatus* ГБС-15. Количество коротких прочтений, классифицированных как *M. capsulatus* ГБС-15 в суспензиях при культивировании в ферментере 10 л, варьировалось от 94% до 96%. Количество коротких прочтений, полученных из суспензий при культивировании в 3 м³ ферментере было 79%, а после 30 суток культивирования с 50%-ным возвратом ОКЖ в 200 л ферментере – 76%. Количество коротких прочтений, классифицированных как *Klebsiella pneumoniae* и *Stenotrophomonas acidaminiphila* во всех ассоциациях были выявлены в следовых количествах. Количество коротких прочтений, классифицированных как *Cupriavidus gilardii*, в количестве 0,1-0,2% присутствовало в метагеномных ассоциациях суспензий, отобранных через 10, 20 и 30 суток после засева (10 л ферментер). Короткие прочтения *Cupriavidus gilardii* выявлены в следовых количествах через 20 часов после засева чистой культурой (10 л ферментер), в остальных ассоциациях – 0,03-0,07%.

В составе метагеномной ассоциации суспензии, отобранной через 30 суток культивирования в 3 м³ ферментере и после 30 суток культивирования с 50%-ным возвратом ОКЖ (200 л ферментер) выявлены короткие прочтения, классифицированные как бактерии *Betaproteobacteria* (*Oryzomicrobium terrae*, *Azospira*, *Bordetella*, *Cupriavidus*, *Comamonas*, *Burkholderia*) в количестве 5% и 4%, соответственно. Два процента коротких прочтений были классифицированы как *Oryzomicrobium terrae*.

Для сравнения геномов *M. capsulatus* в метагеномных ассоциациях с исходной культурой *M. capsulatus* ГБС-15 выполнено картирование коротких прочтений, полученных при секвенировании метагеномных образцов суспензий в программе Lasergene15. Количество выявленных нуклеотидных замен, делеций и инсерций (90-100%) перечислены в таблице 1.

Таблица 1. Выявленные нуклеотидные замены, делеции и инсерции (90-100%)

Образец	Количество
суспензия, отобранная через 20 часов после засева чистой культурой (10 л ферментер)	64
суспензия, отобранная после 30 суток культивирования (10 л ферментер)	77

суспензия, отобранная из чистой культуры на чистом метане (10 л ферментер)	61
суспензия, отобранная после 30 суток культивирования в 3 м ³ ферментере	1389
суспензия, отобранная после 30 суток культивирования с 50%-ным возвратом ОКЖ (200 л ферментер)	1560
суспензия, отобранная через 10 суток после засева (10 л ферментер)	76
суспензия, отобранная через 20 суток после засева (10 л ферментер)	79
суспензия, отобранная через 30 суток после засева (10 л ферментер)	75

Следует отметить увеличение количества выявленных нуклеотидных замен в суспензиях, отобранных после 30 суток культивирования в 3 м³ ферментере и после 30 суток культивирования с 50%-ным возвратом ОКЖ (200 л ферментер) по отношению к референсному геному *M. capsulatus* ГБС-15. Это может свидетельствовать о преобладании клональной линии *M. capsulatus* наиболее приспособленной к данным условиям.

Биотехнологический процесс, проводимый ООО «ГИПРОБИОСИНТЕЗ», представляет открытую систему и предполагает длительный непрерывный процесс культивирования, поэтому существует вероятность персистирования нескольких клональных линий основной культуры *M. capsulatus* ГБС-15, находящихся в динамическом равновесии при определенных параметрах. Эти клональные линии могут иметь генетические отличия. При колебании параметров проводимого биотехнологического процесса динамическое равновесие может смещаться, и, при длительном культивировании при измененных условиях, существует вероятность доминирования клональной линии *M. capsulatus*, генетически отличающейся от исходной линии *M. capsulatus* ГБС-15. Имеется вероятность, что новая клональная линия *M. capsulatus* будет иметь другие биотехнологические характеристики. Также, при изменении условий культивирования существует вероятность элиминирования исходной линии *M. capsulatus* ГБС-15. Кроме этого, при изменениях параметров биотехнологического процесса может меняться состав ассоциативных культур микроорганизмов. Существует вероятность, что изменение состава ассоциантов будет влиять на скорость роста доминантной культуры *M. capsulatus* и на выработку биомассы.

ШТАММ *TRICHODERMA HARZIANUM* ТЬ-2 – ЭФФЕКТИВНЫЙ БИОДЕСТРУКТОР ИМАЗАМОКСА

Е.О. Приставка¹, Е.С. Шадрина¹, Л.А. Беловежец¹

¹ФГБУН Федеральный исследовательский центр Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия, katya-i-95@mail.ru

Гербициды имидазолиновой группы, в частности имазамокс, контролирующие большой спектр сорных растений, широко применяются в сельском хозяйстве благодаря высокой избирательности и низким нормам расхода. Однако имазамокс обладает высокой персистентностью в почве (от нескольких месяцев до 2–3 лет), что приводит к последствию на чувствительные культуры-последователи и требует жестких ограничений при планировании севооборотов [Ладан, 2021; Бычкова, 2023; Chen et al., 2025]. Традиционные физико-химические методы детоксикации дорогостоящи и могут приводить к образованию более токсичных метаболитов, чем исходное соединение [Barba,

2021]. В настоящее время экологически безопасной и экономически целесообразной альтернативой деградации пестицидов является биоремедиация с использованием микроорганизмов-деструкторов. Однако для каждого пестицида требуется поиск специфичных штаммов-деструкторов [Колотова, 2023; Zhao et al., 2024].

Цель исследования – комплексная характеристика микромицета, выделенного из загрязненных имазамоксом почв, обладающего высокой деградационной активностью в отношении данного пестицида.

Штамм микромицета Tb-2 выделяли из образцов серой лесной почвы, отобранной с территории сельскохозяйственных угодий Иркутской области, на которых для защиты рапса применяли гербициды с действующим веществом имазамокс (40 г/л). Идентификацию штамма проводили на основе морфолого-культуральных признаков и секвенирования ITS-региона рДНК с использованием праймеров ITS5/ITS4 (ВНИИКР, Москва). Оценку деградационной активности осуществляли в жидкой минеральной среде Кирка и в модельных почвенных системах с внесением имазамокса в концентрациях 0,1; 1,0 и 10,0 мг/кг. Все варианты инкубировали при 26 °С в течение 30 суток. Остаточное содержание имазамокса в пробах определяли в день постановки эксперимента (0 сут) и на 4, 7, 10, 14, 21 и 28 сутки методом ВЭЖХ с применением системы «Хроматрон-1411» («Лабтех», Москва). Повторность экспериментов трехкратная.

По совокупности комплекса молекулярно-генетических и морфолого-культуральных данных штамм был идентифицирован как *Trichoderma harzianum* Tb-2.

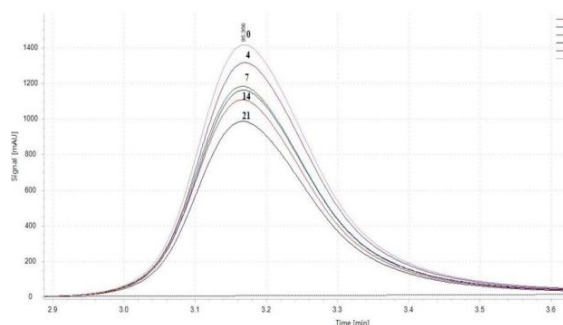
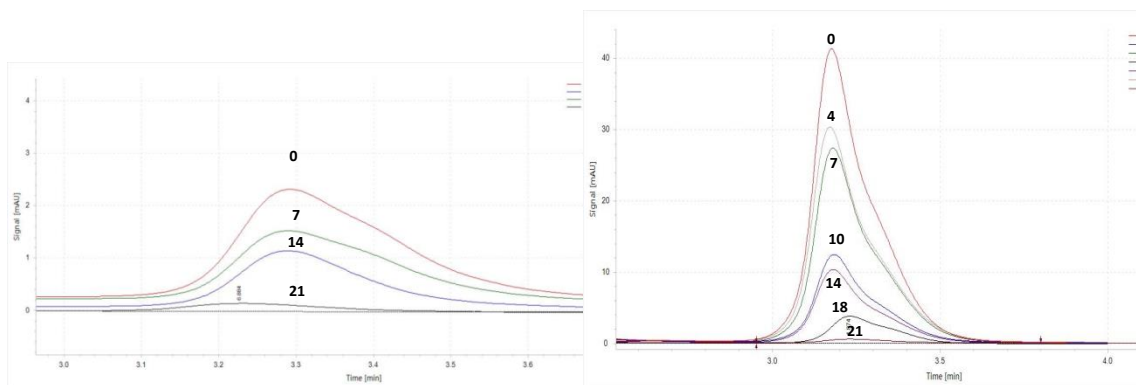


Рисунок 1 – Хроматограмма убьли имазамокса (0, 4, 7, 10, 14, 21 сутки) под действием *T. harzianum* Tb-2 в жидкой минеральной среде при начальной концентрации 10 мг/л

Скрининг деградационного потенциала штамма *T. harzianum* Tb-2 показал способность к активному росту в присутствии имазамокса во всем диапазоне концентраций (0,1–10,0 мг/л). Максимальная деградационная активность в жидкой минеральной среде зафиксирована при концентрации 10 мг/л: убьль имазамокса за 21 сутки составила 54,6 % (рисунок 1). В абиотическом контроле потери не превышали 6–7 %, что свидетельствует о высокой толерантности штамма к пестициду и его способности использовать имазамокс в качестве субстрата даже при сверхвысоких концентрациях.

В модельных почвенных системах *T. harzianum* Tb-2 обеспечивал практически полную деградацию гербицида при низких и средних концентрациях: убьль составила 96,2 % при 0,1 мг/кг и 92,4 % при 1,0 мг/кг за 21 сутки (рисунок 2). При высокой концентрации (10 мг/кг) эффективность деградации снижалась до 48,5 %. Это, возможно, связано с высокой концентрацией имазамокса, которая оказывает токсическое и ингибирующее действие на ферментативные системы гриба, что угнетает скорость его деградации. Важно отметить, что в контроле (нестерильная почва без инокуляции) убьль не превышала 5–7 %, что подтверждает низкий деградационный потенциал аборигенной микрофлоры и доказывает эффективность интродукции *T. harzianum* Tb-2.



(а)

(б)

Рисунок 2 – Степень деградации имазамокса в модельных почвенных системах под действием *Trichoderma harzianum* Tb-2 за 21 сутки: (а) – начальная концентрация 0,1 мг/кг, (б) – начальная концентрация 1 мг/кг

Таким образом, выделенный из почв Иркутской области штамм *Trichoderma harzianum* Tb-2 эффективно деградирует имазамокс в концентрациях 0,1–10,0 мг/кг (убыль 48,5–96,2 % за 21 сутки), значительно превосходя аборигенную микрофлору. Микромицет может быть перспективен для биоремедиации почв, загрязненных имазамоксом, и снижения фитотоксического последствие гербицида на культуры-последователи в севооборотах.

Литература

- Barba F.J. et al. Advanced oxidation processes for pesticide removal // *Chemosphere*. 2021. Vol. 263. Art. 128234.
- Chen X., Wang Y., Luan H., Xu W., Li G., Qu H., Zhang H., Ma C., He Q., Cheng J., Lu Z., Periyasami G., Zhang J., Quan J., Zhou C., Li H. Construction of Sub-Nano Channels of Amino Pillar[6]arene Inspired Biomimetic Porous Roots for Specific Remove of Imazamox // *Chemistry*. 2025. V. 31. № 13. Art. e202403726.
- Zhao S., Yuan X.T., Wang X.H., Ai Y.J., Li F.P. Research Progress and Hotspots in Microbial Remediation for Polluted Soils // *Sustainability*/ 2024. V. 16. № 17. Art. 7458.
- Бычкова В.В., Сазонова И.А., Пиденко П.С., Пиденко С.А., Бурмистрова Н.А. Негативные эффекты применения гербицидов группы имидазолинонов: проблемы и решения // *Агрохимия*. 2023. №2. С. 87–96.
- Ладан С.С. Фитотоксическое последствие имидазолинонов на сидеральную культуру и способы его уменьшения // *Плодородие*. 2021. №6. С. 78–83.
- Применение микробных биотехнологий для устранения в почве остатков гербицидов классов имидазолинонов и сульфонилмочевин (обзор) / О. В. Колотова, Е. Э. Нефедьева, И. Р. Грибуст [и др.] // *Теоретическая и прикладная экология*. 2023. № 4. С. 16–27.

КИНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РОСТА РЕФЕРЕНТНОГО ШТАММА *E. COLI* В ЛВ-БУЛЬОНЕ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО МАСШТАБИРОВАНИЯ

В. П. Саловарова¹, А. Ю. Борисенко², К. В. Рогова³

¹Иркутский государственный университет, г. Иркутск, vsalovarova@gmail.com

²Иркутский государственный медицинский университет, г. Иркутск

³Иркутский государственный университет, г. Иркутск, rkv13@bk.ru

Аннотация. В работе представлены результаты изучения кинетических параметров роста референтного штамма *Escherichia coli* в LB-бульоне при продолжительном культивировании (144 часа). Цель исследования – детальная характеристика фаз роста бактериальной популяции с определением временных границ перехода в стационарную фазу. Эксперимент проводился в трёх повторностях при 37°C с регистрацией оптической плотности (OD600) по комбинированному графику: ежечасно в первые 12 часов и затем каждые 12 часов. Установлено, что лаг-фаза длится 4 часа, логарифмическая фаза активно протекает в интервале 4 – 12 часов (OD600 достигает 2,90 – 3,30), а стационарная фаза устойчиво фиксируется с 24-го часа (среднее OD600 $\approx$ 4,9; коэффициент вариации <3%). Пик биомассы наблюдается к 36-му часу (OD600 5,08), после чего начинается фаза отмирания. Полученные данные формируют базовый профиль роста референтного штамма, который рекомендуется использовать в качестве ориентира для оптимизации процессов масштабирования и сравнительного анализа с биотехнологическими штаммами-продуцентами

Ключевые слова: *Escherichia coli*, кинетика роста, LB-бульон, фазы роста, стационарная фаза, логарифмическая фаза, лаг-фаза, фаза отмирания, оптическая плотность (OD600), референтный штамм, культивирование

Динамика роста референтного штамма *E. coli* в стандартных условиях задаёт базовый кинетический профиль, который служит эталоном для сравнения с биотехнологическими штаммами (плазмиды, изменённый метаболизм) при масштабировании процессов.

LB-бульон как универсальная богатая питательная среда широко применяется для наработки бактериальной биомассы. Понимание временных характеристик фаз роста референтного штамма имеет ключевое значение для оптимизации процессов культивирования: например, индукция экспрессии рекомбинантных белков проводится в логарифмической фазе, а выделение плазмидной ДНК – в стационарной.

Целью настоящего исследования являлась детальная характеристика фаз роста референтного штамма *E. coli* при культивировании в LB-бульоне (объём 500 мл) в течение 144 часов с акцентом на определение времени наступления стационарной фазы.

Для достижения поставленной цели был реализован режим измерения оптической плотности (OD600): ежечасно в течение первых 12 часов для точной фиксации начала и динамики логарифмической фазы; далее каждые 12 часов для отслеживания перехода в стационарную фазу и фазу отмирания. Эксперимент проводился в трёх повторностях при температуре 37°C, что обеспечивает статистическую надёжность и воспроизводимость результатов – это особенно важно для стандартизации лабораторных протоколов.

В ходе эксперимента на референтном штамме *E. coli* были идентифицированы все основные фазы роста бактериальной популяции: лаг-фаза, логарифмическая, стационарная и фаза отмирания.

Лаг-фаза, период адаптации клеток к среде, продолжалась первые 4 часа: за это время оптическая плотность практически не изменялась, оставаясь в диапазоне 0,03 – 0,09. С 4-го часа начиналась логарифмическая фаза – период активного экспоненциального роста. В интервале 4 – 12 часов наблюдалось резкое увеличение OD600, что свидетельствовало об интенсивном клеточном делении с минимальным временем генерации. К 12-му часу значения оптической плотности в повторностях достигали 2,90 – 3,30. Переход к стационарной фазе происходил постепенно в интервале 18 – 24 часа. Стационарная фаза чётко фиксировалась с 24-го часа: среднее значение OD600 стабилизировалось на уровне около 4,9, с минимальными колебаниями между повторностями (стандартное отклонение не превышало 0,15). Пик биомассы приходился на 36-й час (среднее OD600 5,08), после чего начиналось медленное снижение плотности культуры. Фаза отмирания отчётливо проявлялась после 72-го часа культивирования: к 144-му часу среднее значение OD600 снизилось до 2,27, что указывало на массовую гибель клеток вследствие истощения питательных веществ и накопления токсичных метаболитов. Статистическая обработка подтвердила высокую воспроизводимость результатов: коэффициент вариации в

стационарной фазе не превышал 3%, что свидетельствовало о синхронном поведении всех трёх культур референтного штамма.

Проведённое исследование позволило определить временные характеристики всех фаз роста референтного штамма *E. coli* в LB-бульоне в условиях 6-суточного культивирования. Установленное время наступления стационарной фазы может служить ориентиром при планировании экспериментов с биотехнологическими штаммами. Полученные результаты подтверждают значимость проведения измерений в нескольких повторностях для оценки вариабельности и повышения достоверности данных. Разработанный режим измерений (интенсивный на ранних этапах и редкий на поздних) показал свою эффективность для детального описания кинетики роста.

Сформированный базовый профиль роста может быть использован для сравнительного анализа с генетически модифицированными штаммами и оптимизации условий культивирования при масштабировании биотехнологических процессов.

Литература

1. Jaishankar J, Srivastava P. Molecular Basis of Stationary Phase Survival and Applications. Front Microbiol. 2017 Oct 16;8:2000. doi: 10.3389/fmicb.2017.02000 PMID: 29085349; PMCID: PMC5650638.
2. Jindal S, Thampy H, Day PJR, Kell DB. Very rapid flow cytometric assessment of antimicrobial susceptibility during the apparent lag phase of microbial (re)growth. Microbiology (Reading). 2019 Apr;165(4):439-454. doi: 10.1099/mic.0.000777 Epub 2019 Feb 11. PMID: 30741628.
3. Navarro Llorens JM, Tormo A, Martínez-García E. Stationary phase in gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Rev. 2010 Jul;34(4):476-95. doi: 10.1111/j.1574-6976.2010.00213.x. Epub 2010 Feb 6. PMID: 20236330.
4. Rahman M, Hasan MR, Shimizu K. Growth phase-dependent changes in the expression of global regulatory genes and associated metabolic pathways in Escherichia coli. Biotechnol Lett. 2008 May;30(5):853-60. doi: 10.1007/s10529-007-9621-1 Epub 2008 Jan 4. PMID: 18175070.
5. Sezonov G, Joseleau-Petit D, D'Ari R. Escherichia coli physiology in Luria-Bertani broth. J Bacteriol. 2007 Dec;189(23):8746-9. doi: 10.1128/JB.01368-07 Epub 2007 Sep 28. PMID: 17905994; PMCID: PMC2168924.
6. Volkmer B, Heinemann M. Condition-dependent cell volume and concentration of Escherichia coli to facilitate data conversion for systems biology modeling. PLoS One. 2011;6(7):e23126. doi: 10.1371/journal.pone.0023126 Epub 2011 Jul 29. PMID: 21829590; PMCID: PMC3146540.

РАСТВОР АЗОТНОЙ КИСЛОТЫ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ *MISCANTHUS X GIGANTEUS* КАК КОМПОНЕНТ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ СИНТЕЗА БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ И БИОЭТАНОЛА

Е.А. Скиба, А.А. Зенкова

Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, г. Бийск, eas08988@mail.ru

Производство продуктов микробного синтеза из дешевого возобновляемого целлюлозосодержащего сырья соответствует принципам циркулярной экономики и востребовано в глобальном масштабе [Guevara, 2025]. Этапы конверсии целлюлозосодержащего сырья включают химическую предварительную обработку сырья, ферментативный гидролиз полученного субстрата, ферментацию раствора сахаров в целевой продукт и очистку целевого продукта. В процессе предобработки сырья может образовываться ряд ингибиторов, которые будут снижать конвертируемость субстрата и угнетать синтез целевого продукта. Промывка субстратов от ингибиторов – это одна из самых трудоёмких стадий, требующая больших затрат дефицитного в планетарном масштабе ресурса – воды [Saad, 2024]. Поэтому целесообразно использовать для ферментации штаммы, устойчивые к ингибиторам.

Целью работы являлось исследовать влияние остаточных концентраций отработанных растворов, полученных в результате химической предобработки мискантуса гигантского, на выход бактериальной целлюлозы (БНЦ) и биоэтанола, чтобы установить, насколько важна стадия промывки субстрата для получения этих двух видов продуктов микробиологического синтеза, и можно ли использовать субстрат без промывки.

Miscanthus x giganteus российской селекции (сорт Камис), подвергли предобработке с помощью разбавленного раствора азотной кислоты при атмосферном давлении. Процесс проводился в лабораторных условиях, один раствор использован шестикратно для предобработки новых порций мискантуса. Отработанный раствор представлял собой жидкость коричневого цвета, содержащую сухих веществ 4,1 %, фульватов – 5,3 г/л, редуцирующих сахаров 36,5 г/л, из них глюкозы 2,7 г/л. Отработанный раствор добавлялся в дозировке от 0,001 % до 1,0 % к синтетической глюкозной питательной среде. Контролем служила питательная среда без добавления отработанного раствора мискантуса.

Продуценты были выбраны по признаку устойчивости к гидролизным средам. Продуцентом БНЦ выступила SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast), использовалась традиционная среда с полифенолами чёрного чая, содержание глюкозы в среде составило 20 г/л. Подробно методология представлена в работе [Skiba, 2025]. Продуцентом биоэтанола выступил штамм *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1693, использовалась полная дрожжевая среда, содержание глюкозы в среде составило 100 г/л. Подробно методология представлена в работе [Skiba, 2018]. Конверсия глюкозы и выход целевых продуктов рассчитаны на начальную концентрацию субстрата.

Отработанный раствор *Miscanthus x giganteus* является ингибитором биосинтеза БНЦ. Несмотря на высокую конверсию глюкозы (93.5-95 %), SCOBY полностью утрачивает способность к биосинтезу БНЦ при концентрации раствора всего 1 % (таблица). По мере снижения дозировки раствора, способность к биосинтезу БНЦ восстанавливается, а дозировка раствора 0.01 % повышает выход БНЦ на 6 % по сравнению с контролем. Это можно объяснить тем, что физиологически гель-плёнка БНЦ синтезируется SCOBY для защиты микроорганизмов от неблагоприятных факторов среды. При дальнейшем разбавлении и дозировке отработанного раствора мискантуса 0.001 % выход БНЦ становится равен контрольному.

Отработанный раствор *Miscanthus x giganteus* не является ингибитором биосинтеза биоэтанола. Во всех вариантах достигается высокая степень конверсии глюкозы (99.2-99.8 %) высокий выход биоэтанола (80.3-86.4 %). В дозировках отработанного раствора 0.1-0,001 % выявлено небольшое стимулирование выхода биоэтанола – на 4-7 %. Эффект стимулирования может быть связан с наличием в растворе фульватов. Описано, что в небольших концентрациях гуминовые вещества обладают стресс-индуцирующей и одновременно протекторной активностью, позволяющей длительно сохранять активность клеток [Николаев, 2020]. При дозировке отработанного раствора 1 % показатели биосинтеза равны контрольным. Штамм *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ Y-1693 характеризуется повышенной устойчивостью к гидролизным средам. Опыты следует продолжить, дозировку отработанного раствора повысить; возможно, штамм способен к синтезу биоэтанола на субстратах, полученных из *Miscanthus x giganteus*, без промывки.

Таблица. Выход БНЦ и биоэтанола в зависимости от дозировки отработанного раствора *Miscanthus x giganteus*

Дозировка раствора, %	1.0	0.1	0.01	0.001	0 (контроль)
БНЦ					
Конверсия глюкозы, %	93.5±0.5	95.0±0.5	93.5±0.5	94.0±0.5	93.5±0.5
Выход, %	0	3.06±0.05	6.67±0.05	6.48±0.05	6.28±0.05
Биоэтанол					

Конверсия глюкозы, %	99.2±0.5	99.8±0.5	99.8±0.5	99.8±0.5	99.2±0.5
Выход, %	80.3±0.3	83.3±0.3	83.3±0.3	86.4±0.3	80.3±0.3

В целом, для биосинтеза биоэтанола не требуется тщательная промывка, что упрощает технологию и ведёт к экономии воды, а для биосинтеза БНЦ субстраты из *Miscanthus x giganteus* должны быть тщательно промыты. БНЦ – высокомаржинальный продукт и дополнительные затраты на промывку следует считать обоснованными [Skiba, 2025].

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-13-00107-П (<https://rscf.ru/project/22-13-00107/>).

Литература

Николаев Ю.А., Лойко Н.Г., Демкина Е.В. Атрощик Е.А., Константинов А.И., Перминова И.В., Эль-Регистан Г. И. Функциональная активность гуминовых веществ в пролонгировании выживания популяции углеводородокисляющей бактерии *Acinetobacter junii* // Микробиология. 2020. 89(1). 74-87. <https://doi.org/10.1134/S0026365620010103>

Guevara K. M., Martinez-Valenzuela G., Sanchez-Vasquez V., Guerrero-Ruiz K., Fiallos-Cardenas M. Trends and perspectives on bacterial nanocellulose: A comprehensive analysis from the three helixes of innovation // Materials Today Sustainability. 2025. 30. 101090. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2025.101090>

Saad M. B. W., Gonçalves A. R. Industrial pretreatment of lignocellulosic biomass: a review of the early and recent efforts to scale-up pretreatment systems and the current challenges. Biomass Bioenergy. 2024. 190. 107426. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2024.107426>

Skiba E.A., Mironova G.F., Kukhlenko A.A., Orlov S.E. Enhancing the yield of bioethanol from the lignocellulose of oat hulls by optimizing the composition of the nutrient medium // Catalysis in Industry. 2018. V. 10. №. 3. P. 257–262. <https://doi.org/10.1134/S207005041803008X>

Skiba E. A., Shavyrkina N. A., Budaeva V. V., Ovchinnikova E. V., Mironova G. F., Gladysheva E. K., ... & Sakovich G. V. Biotechnological transformation of *Miscanthus x giganteus*: Technological and environmental aspects // Bioresource Technology. 2025. 133374. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.133374>

АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭКСТРЕМАЛЬНО ГАЛОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В БИОТЕХНОЛОГИИ

К.Ю. Стоянчук, М.А. Сивко, А.А. Кузьмицкая, С.В. Калёнов

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва,
kuzmichwolf@gmail.com

Галофильные археи порядка *Halobacteriales* встречаются в гиперсолёных средах, где концентрация соли NaCl превышает 150-200 г/л: в солёных озёрах, в Мёртвом море и в кристаллизационных прудах соляных промыслов. К другим средам обитания галофильных архей относятся, например, солёная рыба и шкуры, консервированные солевой обработкой, а также некоторые ферментированные пищевые продукты, в которые в процессе производства добавляют молярные концентрации хлорида натрия.

Галофильные археи обладают уникальными механизмами, которые позволяют им выдерживать различные экстремальные условия внешней среды, связанные не только с высокими концентрациями солей, но и с опасным уровнем солнечной радиации, температурными перепадами, нехваткой кислорода, азота и доступных источников углерода. В их клетках содержатся особые ферментативные системы, адаптированные к подобным условиям, а в состав компонентов клеточной мембраны входят различные каротиноидные пигменты, которые как укрепляют саму мембрану, так и защищают архей от деструктивного воздействия УФ-излучения. Каротиноиды обладают высокой антиоксидантной активностью, которая проявляется в торможении процессов окисления

липидов, предотвращении предраковых и возрастных повреждений клеточных мембран, а также радиационных поражений и сердечно-сосудистых заболеваний [Кошкарева, 2016].

Экстремально галофильная архея *Haloarcula japonica* растёт при 2,6-4,3 М NaCl, а на её поверхности содержится множество различных гликопротеинов. В клетках *H. japonica* происходит накопление С50-каротиноидов, преимущественно бактериоруберина и его производных. Поскольку каротиноиды, продуцируемые галофильными археями, выполняют функцию стабилизации клеточных мембран и защиты от окислителей, эти соединения крайне необходимы таким микроорганизмам для выживания в суровых природных условиях [Yang, 2015]. Воздействие бактериоруберина на клетки галоархей может исследоваться в том числе с помощью применения мутантных штаммов *H. japonica* с пониженным уровнем его синтеза [Yatsunami, 2014].

В лабораторных условиях из образцов воды и донных отложений гиперсолёного озера Масазыргёль (Азербайджан) был выделен микроорганизм, относящийся к виду *H. japonica*. Выделение изолята проводилось методом накопительных культур, методом Коха и методом истощающего штриха с использованием селективных жидких и агаризованных сред с высоким содержанием минеральных солей, которое характерно для естественного биотопа экстремально галофильных микроорганизмов (NaCl – 240 г/л, MgSO₄·7H₂O – 35 г/л, MgCl₂·6H₂O – 30 г/л, KCl – 7 г/л). Культивирование проводилось в колбах объёмом 100 мл с 50 мл жидкой среды в течение 14 сут. при постоянном перемешивании на орбитальном шейкере-инкубаторе при 150 об/мин, температуре +37°C и освещении 500 Лк.

В ходе микроскопического анализа установлено, что морфология клеток выделенного штамма демонстрирует выраженный плеоморфизм и зависит от стадии жизненного цикла культуры: от палочковидной и треугольной формы клеток в ранней экспоненциальной и стационарной стадии роста до преимущественно сферической формы клеток в стадии позднего стационара или при осмотическом стрессе.

Дальнейшее изучение полученной *H. japonica* будет направлено на оптимизацию условий биосинтеза различных каротиноидов, а также на возможную адаптацию данного микроорганизма к метаболизму ароматических субстратов.



Рис. 1. Культура *Haloarcula japonica* в колбе с минеральной средой для экстремально галофильных архей

Литература

Кошкарева К.А., Калёнов С.В. Характеристика основного компонента экстремального галофильного сообщества из кристаллов соли озера Аликес – перспективного продуцента каротиноидов // Успехи в химии и химической технологии. 2016. № 9. С. 23-24.

Yang Y. et al. Complete biosynthetic pathway of the C50 carotenoid bacterioruberin from lycopene in the extremely halophilic archaeon *Haloarcula japonica* // Journal of Bacteriology. 2015. Vol. 197. № 9. P. 1614-1623.

Yatsunami R. et al. Identification of carotenoids from the extremely halophilic archaeon *Haloarcula japonica* // Frontiers in microbiology. 2014. Vol. 5. № 100.

RHODOCOCCLUS SP. КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПРОДУЦЕНТ БИОСУРФАКТАНТОВ

Е.И. Стрекаловская¹, Н.П. Жарков², А.В. Маслеева², Д.О. Самульцев¹, Л.А. Беловежец¹

¹ ФГБУН Федеральный исследовательский центр Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, Иркутск, Россия, ivanova.iem@gmail.com

² Иркутский государственный университет, Иркутск

В последнее время исследования биологических поверхностно-активных веществ (биоПАВ или биосурфактантов) вызывают большой интерес. Они синтезируются различными микроорганизмами и не уступают по функциональным характеристикам химическим аналогам, при этом являются нетоксичными, биосовместимыми, биodeградебельными и обладают превосходной стабильностью в экстремальных или изменяющихся условиях окружающей среды. Биосурфактанты (БС) способны как диспергировать углеводороды, переводя их в водную фазу и повышая биологическую доступность, так и модифицировать внешние поверхности бактерий путём гидрофобизации, обеспечивая прямой контакт с молекулами углеводородов, что делает их ценными продуктами для множества промышленных и биотехнологических задач. В результате чего поиск культур продуцентов биоПАВ и исследование их свойств является актуальным [Кузюкина, 2010; Wang, 2022].

На основании вышеизложенного цель исследования: оценить потенциал выделенного ранее представителя рода *Rhodococcus* (RH-2404) как продуцента биосурфактантов и оптимизировать состава питательной среды для увеличения их выхода.

Микроорганизм, использованный в данном исследовании, кодовое название RH-2404, был выделен из почвы загрязненной нефтью (Усольский район, Иркутская обл.) и идентифицирован как представитель рода *Rhodococcus* по ключам, приведенным в «Определителе бактерий Берджи». Для накопления БС изолят *Rhodococcus* sp. RH-2404 культивировался на качалке при 22 °С на жидкой минеральной среде (МС; pH 7) следующего состава, г/л: источник азота (NH₄Cl, NaNO₃ и NH₄NO₃) – 3,0; K₂HPO₄×3H₂O – 1,0; FeSO₄×7H₂O – 0,01; MgSO₄×7H₂O – 0,5; KCl – 0,5; с использованием различных источников углерода и энергии (2%) в виде гексадекана (ГК), дизельного топлива (ДТ), глюкозы (ГЛ), кукурузного экстракта (КЭ) и мелассы (МС). Полученную бактериальную суспензию разделяли на биомассу клеток и супернатант путем центрифугирования. Экстракцию БС проводили после 7 сут культивирования из супернатанта смесью хлороформ/метанол (3:1), предварительно подкислив каждую из проб соляной кислотой до pH 2. Оценку функциональной активности БС определяли с помощью индекса эмульгирования, пенообразующей активности, вытеснения нефти, измерения показателей поверхностного и межфазного натяжения [Беловежец, 2021; Andreolli, 2023].

Выбор подходящего субстрата для оптимального роста микроорганизмов является важным фактором, определяющим возможность производства БС микроорганизмами. Поэтому для максимального производства биомассы и БС были использованы различные источники углерода и азота. Среди гидрофобных источников углерода гексадекан продемонстрировал

наилучшие результаты по накоплению биомассы *Rhodococcus* sp. RH-2404 до $15,149 \log_{10}$ КОЕ/мл к 7 суткам культивирования. Из гидрофильных источников углерода наибольшее накопление биомассы *Rhodococcus* sp. RH-2404 до $13,739 \log_{10}$ КОЕ/мл отмечалось при использовании мелассы. Результаты показывают, что для накопления биомассы источники углерода по предпочтительности находятся в следующем порядке (от наибольшей к наименьшей): ГК > МС > ГЛ > ДТ > КЭ. При использовании оптимального источника углерода в виде гексадекана и нитрата натрия в качестве источника азота продемонстрированы наилучшие показатели роста изолята (рис. 1), обеспечивающие выход абсолютно сухой биомассы равной 2,34 г/л среды.

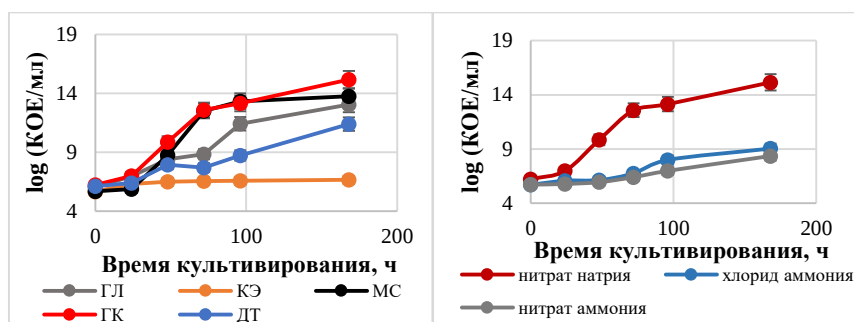


Рис. 1. Влияние источников углерода и азота на рост изолята *Rhodococcus* sp. RH-2404 в минеральной среде

Биосурфактант, продуцируемый *Rhodococcus* sp. RH-2404 к концу культивирования на среде с гексадеканом вызывал существенное снижение поверхностного натяжения питательной среды с исходного значения 72 до 23,5 мН/м, а также снижал межфазное натяжение между ДТ и супернатантом до 30,6 мН/м. С первых суток культивирования супернатант формировал мелко ячеистую белую плотную пену с показателем пенообразующей активности равной 65,1%, к 7 суткам культивирования показатель достигал 93,3%. Изолят эффективно эмульгировал ДТ. К 72 часам культивирования отмечалась стабилизация эмульгирующей активности с E_{24} – 25,9%. Последующие сутки культивирования наблюдалось увеличение эмульгирующей активности, так на 4 и 7 сутки показатель E_{24} был равен 53,6% и 50,0%, соответственно. Супернатант, полученный на среде с гексадеканом продемонстрировал зону вытеснения нефти диаметром 5,3 см, что соответствовало площади 22,1 см² (рис. 2). Изолят *Rhodococcus* sp. RH-2404 продуцировал выход биосурфактанта равный 0,542 г/л среды.

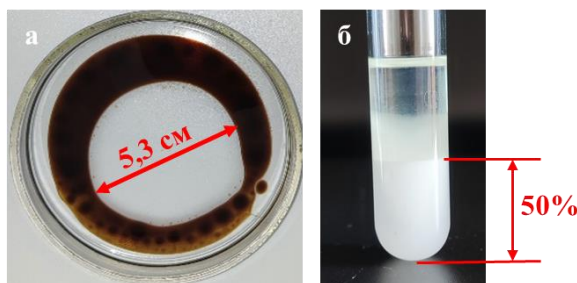


Рис. 2. Пример эмульгирующей активности и вытеснения нефти супернатантом *Rhodococcus* sp. RH-2404

Таким образом, бактериальный изолят *Rhodococcus* sp. RH-2404 при использовании гексадекана в качестве субстрата продемонстрировал замечательную способность продуцировать биосурфактанты, что подтверждено результатами различных физико-химических анализов.

Литература

Kuyukina M.S., Ivshina I.B. *Rhodococcus* biosurfactants: biosynthesis, properties, and potential applications. In: Alvarez, H. (eds) *Biology of Rhodococcus*. Microbiology Monographs, Springer, Berlin, Heidelberg. 2010. Vol. 16. P. 291-313.

Wang Y., Wu S., Wang H., Dong Y., Li X., Wang S., Zhuang X. Optimization of conditions for a surfactant-producing strain and application to petroleum hydrocarbon-contaminated soil bioremediation // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2022. Vol. 213, 112428.

Беловежец Л.А., Третьякова М.С., Маркова Ю.А., Ознобихина Л.П. Физико-химические свойства биосурфактантов, продуцируемых микроорганизмами-нефтедеструкторами // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2021. № 29(1). С. 21-26.

Andreolli M., Villanova V., Zanzoni S., D'Onofrio M., Vallini G., Secchi N., Lampis S. Characterization of trehalolipid biosurfactant produced by the novel marine strain *Rhodococcus* sp. SP1d and its potential for environmental applications // *Microbial Cell Factories*. 2023. Vol. 22(1). 126.

ОЦЕНКА БИОРЕСУРСНОГО ПОТЕНЦИАЛА МИКОРИЗООБРАЗУЮЩИХ ГРИБОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ ДЛЯ ИСКУССТВЕННОЙ МИКОРИЗАЦИИ СЕЯНЦЕВ ХВОЙНЫХ ПОРОД

Н.В. Филинова¹, Д.С. Белоусов¹, Л.А. Беловежец¹

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук» (ИрИХ СО РАН), Иркутск, Filinova_nv@mail.ru

Искусственная микоризация сеянцев хвойных пород рассматривается как перспективный биотехнологический метод повышения качества посадочного материала и успешности лесовосстановления. Восточная Сибирь, обладая значительными лесными ресурсами, сталкивается с проблемами воспроизводства хвойных лесов, что может быть связано с низкой приживаемостью сеянцев, используемых для возобновления лесных ареалов. Поэтому поиск эффективных и экологических подходов повышения стрессоустойчивости и улучшения адаптации является актуальным. Оценка биоресурсного потенциала аборигенных микоризообразующих грибов является ключевым этапом для разработки таких технологий и определяется не только распространенностью кандидатных макромицетов, но и их способностью к культивированию, эффективностью симбиоза и влиянием на рост сеянцев.

Таким образом, целью данной работы был отбор высокоэффективных аборигенных Восточной Сибири штаммов микоризообразующих грибов, для искусственной микоризации сеянцев хвойных растений с ЗКС основных лесообразующих пород данного региона.

В сосново-еловых лесных массивах были собраны образцы плодовых тел грибов, получены споровые отпечатки и выделены в чистую культуру *in vitro* штаммы грибов-микоризообразователей. Для культивирования мицелия использовали твердые питательные среды: сусло-агар, картофельно-декстрозный агар и среда MMN (модифицированная среда Melin-Norkrans). Для изучения биотехнологического потенциала и особенностей роста макромицетов использовали жидкую среду роста, содержащую 10 г/л автолизата дрожжей и 20 г/л глюкозы. Оценивали скорость прироста биомассы, степень утилизации глюкозы и изменение pH среды культивирования в течение 9 суток в динамических условиях (120 об/мин) при 26 °С. Эксперименты по изучению эффективности микоризации сеянцев хвойных исследуемыми грибами штаммами проводили в условиях защищенного грунта

на базе Иркутского института химии СО РАН. В качестве объектов исследования использовали семена сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*), ели сибирской (*Picea obovata*). По окончании периода роста сеянцев сравнивались морфометрические параметры инокулированных и контрольных растений: длина растения, корней и стволика, диаметр кроны.

Из введенных в чистую культуру 17 штаммов по способности роста на твердой среде и возможности продуцировать жизнеспособный мицелий для оценки биотехнологической перспективности в работу были отобраны 7 штаммов по предварительной идентификации плодовых тел, в основном относящихся к родам *Russula*, *Lactarius* (№ 7, 9, 15, 20, 27, 32, 34). Наибольший прирост биомассы при глубинном культивировании показали штаммы № 20 (7,6 г/л), № 34 (9,0 г/л) и № 7 (6,6 г/л); штамм № 27 и № 9 показали умеренный прирост, низкий выход биомассы отмечен для штаммов № 32 и № 15 в связи с медленной скоростью роста. Анализ продукционных и кинетических параметров кандидатных штаммов показал, что экономический коэффициент (Y) для быстрорастущих штаммов составил: № 27 - 0,23; № 20 – 0,51; № 34 – 0,57; № 7 – 0,39. Степень утилизации глюкозы к концу периода инкубации составляла 80-85%.

Внесение иммобилизованного жизнеспособного мицелия исследуемых штаммов в контейнерный субстрат для роста сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea obovata* привело к увеличению морфометрических показателей по сравнению с контрольными вариантами. Наибольшее достоверное увеличение длины и массы корня происходило при инокуляции сеянцев сосны штаммами № 9, № 20, № 34 и при инокуляции сеянцев ели штаммами № 15, № 20, № 27, № 34. При визуальном осмотре корневой системы инокулированных сеянцев наблюдались измененные корневые окончания специфичные для микоризы (рисунок 1).



Рис.1. Измененные корневые окончания специфичные для микоризы сеянцев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*).

Таким образом, на основе анализа комплекса показателей биотехнологически перспективными из протестированных штаммов оказались штаммы № 34 и № 20, сочетающие высокие продукционные качества в культуре с эффективным симбиозом с обоими видами хвойных.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 25-26-00577 (<https://ias.rscf.ru/user/doc/a.w.p.2025.118.main/24826111>).

АДАПТАЦИОННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ АБОРИГЕННОЙ НЕФТЕОКИСЛЯЮЩЕЙ МИКРОБИОТЫ В УСЛОВИЯХ ЗАГРЯЗНЕНИЯ МАЗУТОМ

А.А. Худокормов, Е.В. Моисеева, А.А. Самков, Н.Н. Волченко

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный университет», Российская Федерация, город Краснодар, sashokas@yandex.ru.

В Керченском проливе 15 декабря 2024 г. произошло крушение двух танкеров – «Волгонефть-212» и «Волгонефть-239», перевозивших топочный мазут марки М-100. В результате часть мазута попала на берег, где, смешавшись с песком, образовала очаги углеводородного загрязнения. Залповый характер попадания загрязнений способен практически полностью нарушить функционирование экосистемы, оказывая прямое токсичное воздействие на организмы и растения [Kim, 2019]. Углеводороды обладают высокой биологической активностью, вследствие чего являются опасными поллютантами окружающей среды. Токсическое действие нефтепродуктов нарушает функционирование трофических цепей и энергетический баланс аборигенного микробиома. Естественная биологическая деградация такого типа загрязнений представляет собой многостадийный биогеохимический процесс преобразования поллютантов, центральным звеном которого выступает ферментативная активность аборигенных микроорганизмов, окисляющих органические соединения нефти до конечных метаболитов, включаемых в общий цикл углерода [Миронов, 2002]. Показано, что аборигенные микроорганизмы вблизи источников загрязнения обладают достаточной активностью к биотрансформации небольших концентраций углеводородов. Однако, нефтеокисляющий потенциал аборигенной микрофлоры зависит не только от количественного содержания аборигенных микроорганизмов, как гетеротрофных, так и нефтеокисляющих, но и от их биоразнообразия [Шаталина, 2022]. Повысить скорость и эффективность самоочищения экосистемы от нефтепродуктов позволяет дополнительная активация аборигенного консорциума нефтеокисляющих микроорганизмов [Ягафарова, 2016]. Изучение видового состава, биохимических особенностей, численности и распространения нефтеокисляющих бактерий позволяет судить о потенциальной способности экосистемы к самоочищению [Баландина, 2014].

Целью нашей работы было изучение адаптационного потенциала аборигенной нефтеокисляющей микробиоты в условиях залпового загрязнения мазутом прибрежного песка и грунта. Отбор проб осуществляли через 2 месяца после аварийного разлива в местах массового загрязнения экотоксикантом в районе центрального пляжа и пляжа Джемете города-курорта Анапа, на Бугазской косе, а также в районе мыса Железный рог (южный берег Таманского полуострова). За период исследований было отобрано 18 проб замазученного песка и грунта.

Посевы песка и грунта проводили методом предельных разведений на мясо-пептонный агар и минеральную плотную среду Диановой-Ворошиловой, в которую добавляли предварительно простерилизованную нефть. Посевы инкубировали в термостате при температуре 25 °С. Общее микробное число оценивали на третьи сутки, количество нефтеокисляющих бактерий на минеральной среде с нефтью – на десятые сутки.

Общее микробное число в пробах песка, загрязнённого мазутом, было в 3–10 раз меньше в сравнении с фоновыми значениями, в то время как в пробах замазученного грунта в районе мыса Железный рог, наоборот – в 3–5 раз выше фоновых значений, что свидетельствует о более высоком адаптационном потенциале аборигенной микробиоты грунта по сравнению с микрофлорой прибрежного песка. Количество нефтеокисляющих микроорганизмов в пробах песка с центрального пляжа и Джемете было достаточно небольшим и статистически достоверно не отличалось от фоновых значений, составляющих, в среднем, $1,4 \times 10^2$ КОЕ/г. В пробах замазученного песка, отобранных в районе Бугазской косы, в верхнем, наиболее загрязнённом горизонте (0–20 см), количество нефтеокисляющих бактерий было более, чем в 200 раз ниже фоновых значений, что свидетельствует о сильном токсическом действии мазута на природную углеводородокисляющую микробиоту. В пробах замазученного грунта, отобранных в районе мыса Железный рог, количество нефтеокисляющих микроорганизмов более чем в 10 раз превышало фоновые значения, что свидетельствует о активном протекании

процессов биodeградации поллютанта и адаптации аборигенной углеводородокисляющей микробиоты к мазутному загрязнению.

В жидкой среде проводилось предварительное моделирование процесса микробиологической деструкции мазута с целью поиска эффективных аборигенных микроорганизмов-деструкторов. Для чего в колбы с минеральной жидкой средой Диановой-Ворошиловой (50 мл среды) внесли 250 мг мазута (0,5 % по массе) и штаммы 6 нефтеокисляющих бактерий активных деструкторов нефти, выделенных из замазученного песка и грунта, обеспечивая их конечную концентрацию в среде на уровне 10^6 клеток/мл. Культивирование проводили на орбитальном шейкере при температуре плюс 25 °C и 150 об/мин. В качестве контроля использовали колбы с минеральной средой аналогичного состава с добавлением Западно-Сибирской нефти в количестве 500 мг (1 % по массе). За 14 дней эксперимента степень деструкции мазута аборигенными штаммами бактерий составила от 9 до 16 %, в то время как в контрольных колбах деструкция нефти была выше 95%. Таким образом, более низкую скорость и эффективность деградации мазута аборигенной микрофлорой по сравнению с нефтью следует учитывать при планировании работ по биоремедиации и оценке способности системы к самоочистке.

Литература

Kim, T., Hong, J.-K., Jho, E.H., Kang, G., Jin Yang, D., & Lee, S.-J Sequential biowashing-biopile processes for remediation of crude oil contaminated soil in Kuwait // Journal of Hazardous Materials. – 2019. – Vol. 378. — 120710. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.05.103>

Миронов, О.Г. Бактериальная трансформация нефтяных углеводородов в прибрежной зоне моря // Морск. экол. журнал. – 2002. – №1. – Вып. 1. – С. 55-66.

Шаталина, Е. С., Худокормов, А. А., Самков, А. А., Волченко, Н. Н., Моисеева, Е. В. Нефтеокисляющий потенциал аборигенной микрофлоры почвы в отношении легкой пластовой нефти // Современная биология и биотехнология: проблемы, тенденции, перспективы. – 2022. – С. 35-38.

Ягафарова Г.Г., Леонтьева С.В., Сафаров А.Х. Особенности процесса активации аборигенной микрофлоры для очистки почвы от экотоксикантов // Вестник казанского технологического университета. 2016. № 11. С. 205-207.

Баландина А. В., Кузнецов Д. Б., Бурдова Л. В. Самовосстановление нефтезагрязненных почв // Успехи современного естествознания. – 2014. – №. 4. – С. 85-88.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА НЕФТЕШЛАМОВ РАЗНОГО СРОКА ХРАНЕНИЯ НА ТЕРРИТОРИИ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

А.А. Худокормов¹, Е.В. Моисеева¹, А.С. Самков¹, Н.Н. Волченко¹, М.Н. Круглова¹
ФГБОУ ВО Кубанский государственный университет, Краснодар, sashokas@yandex.ru

Действующие и законсервированные шламонакопители нефтепродуктов на территории Краснодарского края представляют собой открытые амбары, где захоронены нефтешламы. Это отходы добычи, транспортировки, переработки нефтепродуктов, а также грунт и песок после разливов нефти [Булатов, 2021]. Существует множество подходов (сжигание, пиролиз, отстаивание, физико-химические методы и др.) к утилизации этих отходов, но их общим недостатком является низкая производительность, высокие ресурсные, энергетические и финансовые затраты.

Одним из перспективных биотехнологических подходов к биоремедиации нефтешламов является использование аборигенных микроорганизмов [Редкозубов, 2010]. Объектами исследования являлись образцы из шламонакопителя сроком хранения не более года и шлам, находящийся на хранении 25 лет. Нефтешламы очищали от механических примесей, добавляли 5 г в колбу с физиологическим раствором (95 мл) и додецилсульфатом

натрия (150 мг/л) для отделения от нефтяной фазы микроорганизмов и механических примесей на роторной качалке при 150 об/мин в течение 10 минут. Классическими микробиологическими методами посевов на плотные и жидкие среды проводили учет численности физиологических групп: гетеротрофов, азотфиксаторов, денитрификаторов, нитрификаторов, олиготрофов, целлюлолитиков, углеводородокисляющих, сульфатредуцирующих микроорганизмов [Егоров, 1976].

В процессе работы было установлено, что при нахождении шлама в накопителе первый год происходит резкое угнетение всех физиологических групп бактерий на 3-5 порядков. Содержание углеводов, измеренное методом газовой хроматографии, начиная с С14 до С34 в шламе текущего накопления в 1,8 раз больше в сравнении с этими же группами шлама длительного хранения. Количество нефтеокисляющих микроорганизмов шлама длительного хранения варьировало в пределах 1×10^6 – 1×10^7 КОЕ/г, а количество углеводородокисляющих микроорганизмов в нефтешламе текущего накопления определить не удалось. Это может быть связано с токсическим воздействием количественного и качественного состава углеводов шлама текущего хранения [Овсянникова, 2013].

Для проверки нефтеокисляющего потенциала аборигенной микрофлоры в модельном эксперименте 5 г шлама добавляли в среду Ворошиловой-Диановой [Токпаева, 2019] и культивировали на шейкере с последующим определением остаточных углеводов методом колоночной хроматографии с гравиметрическим окончанием [ПНД Ф 14.1:2.116-97, 2004]. Эффективность деструкции нефти составила 50 % в шламе длительного хранения, 15 % в шламе текущего накопления.

В шламе текущего накопления вследствие его высокой токсичности затруднено формирование микробного сообщества, что проявляется в невысоком биоразнообразии и низкой численности микроорганизмов. Как следствие уменьшается биотехнологический потенциал данного отхода. В связи с чем при проведении биоремедиации нефтешламов текущего накопления требуется внесение больших количеств биопрепаратов. С течением времени под действием естественных процессов автохтонное сообщество получает дополнительные источники энергии, адаптируется к условиям среды, что приводит к увеличению численности и биоразнообразия микробиоты. Культивируемая микрофлора нефтешлама длительного срока хранения представляет собой адаптированное к химическому составу и физическим факторам среды сообщество, которое можно использовать для оптимизации процесса биоремедиации нефтешламов.

Литература

Булатов В. И., Игенбаева Н. О., Нанишвили О. А. Отходы нефтегазового комплекса как технологический индикатор геоэкологического состояния регионов России // Бюллетень науки и практики. 2021. Т. 7. №. 8. С. 46-55.

Егоров Н. С. Практикум по микробиологии: учебное пособие. МГУ. 1976.

Овсянникова В. С., Сваровская Л. И., Алтунина Л. К., Филатов Д. А., Фурсенко Е. А., Каширцев В. А. Комплексный метод восстановления нефтешламов // Химия в интересах устойчивого развития. 2013. Т. 21. № 2. С. 165-172.

ПНД Ф 14.1:2.116-97 Методика выполнения измерений массовой концентрации нефтепродуктов в пробах природных и сточных вод методом колоночной хроматографии с гравиметрическим окончанием. М.: Министерство охраны окружающей среды и природных ресурсов РФ. 2004.

Редкозубов С.В. Перспективы применения аборигенной микрофлоры Жирновского шламохранилища для утилизации нефтешламов // Вестник Волгоградского государственного университета. Экономика. 2010. Т. 3. №. 2. С. 221-228.

Токпаева Ж., Тотубаева Н. Подбор оптимальной питательной среды для культивирования углеводородокисляющих бактерий // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. 2019. № 12. С. 123-125.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ МИСКАНТУСНОЙ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА БАКТЕРИАЛЬНОЙ НАНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ

Н.А. Шавыркина

Институт проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук, г. Бийск, shavyrkina.na@bti.secna.ru

Бактериальная наноцеллюлоза (БНЦ) – наноматериал, который нашел широкое применение в качестве эффективного биополимера в различных областях жизни. БНЦ является продуктом жизнедеятельности некоторых видов бактерий и, в отличие от растительной целлюлозы, характеризуется высокой чистотой, прочностью и эластичностью. Проблемой производства БНЦ является высокая стоимость ферментации, низкая производительность и дороговизна питательных сред. Чтобы решить эту проблему, нужны недорогие субстраты. Перспективным сырьем для производства БНЦ являются отходы агропромышленного комплекса, пищевой, текстильной и целлюлозной промышленности [Таокаев, 2024]. В литературе описано успешное использование для биосинтеза БНЦ барды, остающейся после получения этилового спирта на мелассных и зернокартофельных средах. При этом выход БНЦ выше, чем на классической синтетической питательной среде Хестрина-Шремма [Revin, 2018].

В данной работе используется барда, полученная при биоконверсии мискантуса в биоэтанол. Биоэтанол из мискантуса был получен на опытном производстве ИПХЭТ СО РАН при использовании стандартного емкостного оборудования. Мискантус в одну стадию обработан раствором азотной кислоты в реакторе объемом 250 л, полученный продукт азотнокислой обработки методом ферментативного гидролиза, совмещенного со спиртовым брожением, превращен в биоэтанол в реакторе объемом 63 л. Далее бражка разделялась методом простой перегонки, биоэтанол направлялся на очистку в бражной колонне, остаток от перегонки и представляет собой мискантусную послеспиртовую барду [Skiba, 2022].

Предположительно, мискантусная послеспиртовая барда – это биологически недоброкачественная среда для биосинтеза БНЦ, однако её утилизация является важной технологической задачей. Поскольку прогноз по биосинтезу БНЦ на среде барды неблагоприятный, были приготовлены комбинированные питательные среды (путём смешивания барды (от 1 до 60 %) и контрольной синтетической питательной среды). Кроме того, с целью адаптации продуцента к неблагоприятным средам, на каждой среде осуществлено 4 цикла биосинтеза, при этом в каждом последующем цикле в качестве инокулята использовалась культуральная жидкость, полученная в предыдущем цикле. По литературным данным, такой подход позволяет повысить выход БНЦ [Vasconcellos, 2019].

Перед использованием барду центрифугировали при частоте 3500 об/мин в течение 10 минут, для удаления твердых взвешенных частиц. Содержание редуцирующих веществ в барде составляло 15 г/л. Среду нагревали до кипения и использовали для извлечения экстрактивных веществ чёрного чая (10 г/л). В качестве контрольной среды была использована полусинтетическая среда, состоящая из глюкозы (15 г/л) и экстракта чёрного чая (10 г/л). В качестве инокулята использовали SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast), полученную на полусинтетической среде, ее вносили в количестве 10 % в первом цикле биосинтеза БНЦ. Далее проводилось культивирование в течение 7 суток в термостате. Гель-пленки БНЦ промывались согласно и высушивались лиофильно [Skiba, 2025].

В таблице представлен выход БНЦ на комбинированных средах в 4 циклах адаптации.

Парадоксально, но при добавлении от 1 % до 10 % барды выход БНЦ снижается по сравнению с контролем. В четырех циклах адаптации не выявлено повышения биосинтетической способности продуцента по БНЦ от цикла к циклу. Более того, при низкой концентрации 1% в циклах адаптации выход падает. Это полностью противоречит

данным работы [Vasconcellos, 2019]. Как эффект адаптации можно рассматривать сохранение биосинтетической способности продуцента при доле барды в комбинированной питательной среде от 10 % до 30 %. При доле барды в среде от 40 % до 50 % выход БНЦ в циклах адаптации падает. Добавление 60 % барды полностью ингибирует биосинтез БНЦ. Наибольший выход БНЦ получен на среде с внесением 30 % мискантусной послеспиртовой барды, при этом выход БНЦ составляет 121-125 % по отношению к контролю.

Таблица. Выход БНЦ на мискантусной послеспиртовой барде

Вариант	Выход БНЦ в цикле адаптации, %			
	I	II	III	IV
контроль	6,6	6,6	6,3	6,4
1%	3,7	4,2	1,0	1,9
10 %	4,4	4,3	4,1	4,4
20 %	6,8	6,5	5,4	6,1
30 %	8,3	7,7	7,0	7,8
40 %	8,7	7,4	4,4	5,0
50 %	4,8	5,4	3,8	2,6

Можно констатировать, что при низких концентрациях барды она действует как ингибитор, при высоких концентрациях она полностью угнетает способность к биосинтезу БНЦ, а в концентрации 30-40 % приводит к активации биосинтетической способности по БНЦ – достигаются условия управляемого стресса [Плюта, 2013]. Таким образом, экологически вредный отход производства технического биоэтанола – мискантусная послеспиртовая барда – оказался активатором биосинтеза БНЦ.

Исследования проводились при использовании оборудования Бийского регионального центра коллективного пользования СО РАН (ИПХЭТ СО РАН, г. Бийск) за счет гранта Российского научного фонда № 22-13-00107-П (<https://rscf.ru/project/22-13-00107/>).

Литература

- Плюта В.А., Андреев Ю.В., Кузнецов А.Е., Хмель И.А. Образование биопленок *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 в присутствии перекиси водорода; влияние гена АПА // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2013. № 4. С. 10-14. <https://10.3103/S089141681304006X>
- Revin V., Liyaskina E., Nazarkina M., Bogatyreva A., Shchankin M. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products // Brazilian journal of microbiology. 2018. Vol. 49. P. 151-159. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.12.012>
- Skiba E.A., Ovchinnikova E.V., Budaeva V.V. et al. Miscanthus bioprocessing using HNO₃-pretreatment to improve productivity and quality of bioethanol and downstream ethylene // Industrial Crops and Products. 2022. Vol. 177. P. 114448. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114448>
- Skiba E. A., Shavyrkina N. A., Budaeva V. V. et al. Biotechnological transformation of Miscanthus x giganteus: Technological and environmental aspects // Bioresource Technology. 2025. P. 133374. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2025.133374>
- Taokaew, S. Bacterial nanocellulose produced by cost-effective and sustainable methods and its applications: a review // Fermentation. 2024. Vol. 10. № 6. P. 316. <https://doi.org/10.3390/fermentation10060316>
- Vasconcellos V.M., Farinas C.S., Ximenes E., Slininger P., Ladisch M. Adaptive laboratory evolution of nanocellulose-producing bacterium // Biotechnology and Bioengineering. 2019. Vol. 116. № 8. P. 1923-1933. <https://doi.org/10.1002/bit.26997>

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ КОМПЛЕКСНОГО МИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА НА КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОБИОТЫ ВОДЫ

Е.Ю. Шмыга, Д.В. Большакова, Н.В. Сверчкова, Э.И. Коломиец

Государственное научно-производственное объединение «Химический синтез и биотехнологии», Минск, Беларусь, shmyga@biotech.bas-net.by

Введение. Эвтрофикация водоемов является результатом роста биогенной нагрузки, увеличения сброса сточных вод (отходов сельского хозяйства, животноводства, аквакультуры), а также развития промышленности, и считается одной из крупнейших экологических проблем в мире. Для поддержания экологического статуса водных объектов, в частности, рыбоводных прудов, применяются различные подходы, одним из которых является оценка их микробиоты. Так, сообщество гидробиологов отмечает важную роль микробиоты водоема в формировании его гидробиологического режима и рассматривает микробоценоз пруда в качестве индикатора его экологического благополучия [Морозова, 2024]. Данные о видовом и количественном составе микробоценоза позволяют судить не только о степени и продолжительности загрязнения водоема, но и о его способности к самоочищению и восстановлению.

Перспективным направлением в развитии прудового рыбоводства является использование биологических препаратов, созданных на основе высокоэффективных природных штаммов бактерий с антимикробной и ферментативной активностью [Сверчкова, 2020]. Микробные препараты могут являться альтернативой традиционным широко используемым органо-минеральным удобрениям. Обладая пролонгированным действием, они способствуют повышению содержания в прудовой воде биогенных элементов, снижению патогенного фона и получению дополнительной экологически чистой рыбопродукции.

Целью настоящих исследований явилось оценка эффективности действия комплексного микробного препарата «Биовир С» на качественный и количественный состав микробиоты прудовой воды в модельных опытах.

Материалы и методы. Модельный опыт проводили с использованием воды, отобранной из поверхностных слоев водоема на территории Минской области. Перед закладкой опыта, с использованием микробиологических методов, определен состав эколого-трофических групп микробных сообществ образца воды, оценен патогенный профиль (молекулярно-генетический метод), а также исследованы физико-химические и биохимические показатели на определение степени эвтрофикации (ЭкоНиП 17.06.01-006-2023 «Охрана окружающей среды и природопользование. Гидросфера. Нормативы качества воды поверхностных водных объектов»). Обработку воды проводили микробным препаратом «Биовир-С» в концентрации 0,3 мг/л, контроль – вода без обработки, продолжительность опыта – 30 суток. Отбор проб для изучения влияния микробного препарата на водный микробоценоз осуществляли через каждые 10 суток в двукратной повторности. Выделение геномной ДНК из воды осуществляли с помощью набора «Нуклеосорб С» (ОДО «Праймтех»). Подбор праймеров для выявления наиболее значимых групп микроорганизмов вод рыбоводных прудов с различной степенью эвтрофикации осуществляли на основании научных данных, приведенных в литературных источниках [Beaz-Hidalgo, 2008; Hussain, 2014; Fortuna, 2019]. Параметры амплификации для каждой пары праймеров подбирали экспериментально. Детекцию продуктов амплификации проводили электрофоретически.

Результаты и обсуждение. Оценка физико-химических и биохимических показателей воды до закладки опыта с микробным препаратом показала, что значение ХПК поверхностных слоев водоема в среднем составило 72 мг O₂/л, ТДС – 171 ppm, содержание нитрат-ионов – 48,6 мг/дм³, фосфат-ионов – 0,69 мг/дм³, pH – 6,8-7,0. Отмечено преобладание восстановительных процессов, протекающих в водоеме (ОВП = -228 mV). Полученные данные свидетельствуют о высоком уровне эвтрофикации. При определении

состава эколого-трофических групп микробных сообществ установлено, что количество бактерий с протеолитической активностью в образце составило $6,5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, с азотфиксирующей – $1,2 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, с целлюлолитической – $5,4 \cdot 10^2$ КОЕ/мл, с фосфатмобилизующей – $1,0 \cdot 10^1$ КОЕ/мл, аммонификаторов – $8,0 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, условно-патогенных бактерий (родов *Aeromonas*, *Pseudomonas*) – $1,0 \cdot 10^4$ КОЕ/мл.

В опытном варианте отмечено снижение ХПК в среднем в 1,46 раза, концентрации нитратов – в 1,47 раза, фосфатов – в 1,36 раза (таблица), что подтверждает способность микробного препарата «Биовир-С» обеззараживать и очищать воду от органических и минеральных загрязнений.

Таблица – Физико-химические и биохимические показатели воды при обработке микробным препаратом «Биовир-С»

Оцениваемый показатель, единицы величины	Длительность опыта, сут.			
	0	10	20	30
ХПК, О/дм ³	72	64	56	49
Концентрация нитратов, мг/дм ³	48,63	42,86	36,81	33,09
Концентрация фосфатов (включая гидро- и дигидроформы), мг/дм ³	0,685	0,620	0,537	0,502
Водородный показатель, pH	6,8	6,7	7,9	7,5
ОВП, мV	-228	-217	-205	-202
ТДС, ppm	171	180	173	142

Применение микробного препарата «Биовир-С» обеспечило повышение количества бактерий с протеолитической активностью и в среднем составило $7,1 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, с азотфиксирующей – $1,8 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, с целлюлолитической – $6,6 \cdot 10^2$ КОЕ/мл, с фосфатмобилизующей – $1,5 \cdot 10^2$ КОЕ/мл, аммонификаторов – $1,1,0 \cdot 10^4$ КОЕ/мл. Важно отметить, что количество условно-патогенных бактерий снижено и составило в среднем $1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/мл. С использованием ПЦР-анализа обнаружены представители рода *Pseudomonas*, а рода *Aeromonas* не было выявлено.

Выводы. Применение микробного препарата «Биовир-С» обеспечивает повышение количества функционально значимых групп бактерий в составе водного микробоценоза (протеолитиков, азотфиксаторов, целлюлолитиков, фосфатмобилизаторов, аммонификаторов), а также снижение численности условно-патогенных бактерий (р. *Pseudomonas* и р. *Aeromonas*) – возбудителей болезней рыб.

Литература

Морозова, О.В. Особенности развития микробных сообществ в нижнем течении р. Казанки (г. Казань) под влиянием гидрохимических условий / О.В. Морозова // Российский журнал прикладной экологии. – 2024. – № 2. – С. 42-49.

Сверчкова, Н.В. Пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* для животноводства, птицеводства и промышленного рыбоводства / Н.В. Сверчкова // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Сборник научных трудов, Минск. – 2020. – С. 252-264.

Adaption of microarray primers for iron transport and homeostasis gene expression in *Pseudomonas fluorescens* exposed to nano iron / A.-M. Fortuna [et al.] // MethodsX. – 2019. – Vol. 6. – P. 1181–1187.

Detection of hemolytic strains of *Aeromonas hydrophila* and *A. sobria* along with other *Aeromonas* spp. from fish and fishery products by multiplex PCR / I. A. Hussain [et al.] // J Food Sci Technol. – 2014. – Vol. 51, № 2. – P. 401–407.

Development of a PCR protocol for the detection of *Aeromonas salmonicida* in fish by amplification of the *fstA* (ferric siderophore receptor) gene / R. Beaz-Hidalgo [et al.] // Veterinary Microbiology. – 2008. – Vol. 128. – P. 386–394.

MICRAD 2026

МАТЕРИАЛЫ

IV Всероссийская конференция с международным участием

**«МЕХАНИЗМЫ АДАПТАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ К РАЗЛИЧНЫМ
УСЛОВИЯМ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ»**

24 -29 августа 2026 г., Иркутск-Байкал

ISBN

Материалы публикуются в авторской редакции

Автор фото на обложке Сергей Дудаков

Подписано в печать . Формат 60х90 1/16

Уч.-изд.л. 26.9. Тираж 50 экз. Заказ 116

ИЗДАТЕЛЬСТВО ИГУ

664082, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 124