

EXAMINATION OF *BPH*-GENES OF BIPHENYL-DEGRADING BACTERIA FROM TECHNOGENICALLY CONTAMINATED SOIL

A. O. VORONINA, E. S. SHUMKOVA

Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, UB RAS, Perm

Summary. Biphenyl-degrading bacteria were detected in contaminated soil of the city of Chapaevsk (Samara Region). Functional genes regulating key stages of biphenyl/polychlorinated biphenyls degradation were identified and examined in two strains CH(2)-25 and CH(2)-28.

ШТАММЫ АКТИНОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫЕ ИЗ БАЙКАЛЬСКИХ МАКРОБЕСПОЗВОНОЧНЫХ, КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

И. В. ВОЙЦЕХОВСКАЯ, Д. В. АКСЕНОВ-ГРИБАНОВ

Иркутский государственный университет

НИИ биологии Иркутского государственного университета

E-mail: irina.voytsekhovskaya@gmail.com

Производство биологически активных соединений микроорганизмами в настоящее время представляет большой интерес и имеет широкое прикладное значение [3]. Одной из основных таксономических групп, получивших широкое распространение при производстве биологически активных соединений, в том числе ферментов, витаминов, антибиотиков и др., являются актиномицеты (актинобактерии) [8]. Несмотря на широкую изученность данной группы микроорганизмов, штаммы, полученные из необычных, редких и неисследованных сообществ, представляют большой интерес и имеют важное промышленное значение [7].

Одной из наиболее необычных и неисследованных экосистем является древнейшее пресноводное озеро Байкал, фауна которого насчитывает более 2600 видов, 80 % из которых являются эндемиками [2]. Наибольший интерес для поиска новых видов актиномицетов представляют симбионтные сообщества микроорганизмов, ассоциированные с бентосными эндемичными беспозвоночными озера Байкал [1]. Особый интерес представляют амфиподы – доминантная группа макробеспозвоночных Байкала, выполняющая ключевые роли в трофических цепях озера, и губки – высокопродуктивные природные фильтраторы байкальской воды.

Учитывая выраженную потребность амфипод в защитных механизмах против инфекций и токсических соединений, присутствующих в падающем на дно органическом веществе, можно предположить, что падальщики обладают рядом симбиотических связей с актиномицетами, продукты активности которых могут обеспечивать им дополнительную резистентность.

Целью данного исследования являлся скрининг актиномицетов в байкальских макробеспозвоночных и оценка их биосинтетического потенциала. В качестве источников исследования были выбраны эндемичные виды: бентосный вид губки *Baicalospongia bacillifera* (Dyb., 1880) и сублиторальный вид амфипод *Pallasea cancellus* (Pal., 1772).

Для данного исследования были выделены чистые культуры актиномицетов из представленных эндемичных беспозвоночных, определена их таксономическая принадлежность по гену 16S рПНК. Нуклеотидные последовательности гена

16S рРНК, полученные в ходе ПЦР-реакции, сравнивали с последовательностями баз данных GenBank с помощью программы поиска высоко гомологичных последовательностей BLASTN 2.2.29+. Выделенные штаммы актиномицетов культивировали глубинным методом на средах SG и NL-19. Были проведены диффузионные тесты на определение антибиотической активности экстрактов из биомассы, культуральной жидкости и агаровых блоков против модельных штаммов бактерий и грибов (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus carnosus*, *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli* TOLC, *Saccharomyces cerevisiae*). Также был оценен биосинтетический потенциал байкальских актиномицетов с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с масс-спектрометрией HPLC-MS (LC-MS). Данный анализ проводился с применением хромато-масс-спектрометра Thermo scientific Ultimate 3000–MS Amazon (Германия). Анализ хроматограмм был проведен с помощью пакета программ Bruker Daltonics (Data Analysis 4.0) и DNP (Dictionary of Natural products).

По результатам анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК было установлено, что штамм актиномицетов, выделенный из губки *B. bacillifera*, относился к роду *Streptomyces* sp., а штамм, выделенный из амфипод *P. cancellus*, был отнесен к роду *Nocardia* sp. Показано, что выделенные экстракты из биомассы, культуральной жидкости и агаровых блоков данных штаммов актиномицетов обладали антибиотической активностью против тест-культур *E. coli* TOLC и *S. cerevisiae* и не обладали антибиотической активностью против *B. subtilis*, *S. carnosus*, *P. putida*. В ходе анализа масс-спектрохроматограмм экстрактов актиномицетов установлено, что процент идентифицированных соединений, продуцируемых актиномицетами, составлял 9 % (n = 14), а неидентифицированных – 91 % (n = 141) от общего числа всех соединений (n = 155). Показано, что некоторые из идентифицированных соединений, выделенные из экстрактов биомассы и культуральной жидкости актиномицетов *Streptomyces* sp. и *Nocardia* sp., были ранее обнаружены в макробеспозвоночных, а именно: фосфоцерамид в морской звезде *Comanthus japonica* [4], ангасиол ацетат в моллюске *Aplysia Juliana* [5] и тетракозил β-D-глюкопиранозид в губке *Spongilla lacustris* [6]. Таким образом, показано, что ранее идентифицированные соединения продуцируются именно актиномицетами, которые могут являться для данных макробеспозвоночных симбионтами. Проведенные предварительные исследования указывают на то, что актиномицеты Байкала, ассоциированные с бентосными эндемичными беспозвоночными, обладают высоким биосинтетическим потенциалом и представляют большой интерес для дальнейшего исследования.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке проектной части ГЗ № 6.382.2014/К, грантов РФФИ № 14-04-00501 а, РНФ 14-14-00400 программы стратегического развития ФГБОУ ВПО «ИГУ», а также Немецкой службы академических обменов.

Литература

1. Калюжная О. В. ПЦР-скрининг бактериальных культур, выделенных из пресноводной губки *Lubomirskia baicalensis*, на наличие генов синтеза вторичных метаболитов // Вода: химия и экология. 2013. № 7. С. 70–74.
2. Тимошкин О. А. Аннотированный список фауны озера Байкал и его водосборного бассейна: в 2 т. М.: Наука, 2004. 1679 с.

3. Храмцова Е. А. Селекция продуцентов: курс лекций. Минск: БГУ, 2011. 132 с.
4. Arao K. Constituents of Crinoidea. Isolation and structure of a glycosyl inositolphosphoceramide-type ganglioside with neuritogenic activity from the feather star *Comanthus japonica* // Chemical & pharmaceutical bulletin. 2004. Vol. 52, issue 9. P. 1140–1142.
5. Atta-ur-Rahman. A Diterpenoid Lactone from *Aplysia Juliana* // Journal of natural products. 1991. Vol. 54, issue 3. P. 886–888.
6. Hu J.M. A New Spongilipid from the Freshwater Sponge *Spongilla lacustris* // Bulletin of the Korean Chemical Society. 2009. Vol. 30, issue 5. P. 1170–1172.
7. Jenke-Kodama H., Dittmann E. Evolution of metabolic diversity: insights from microbial polyketide synthases // Phytochemistry. 2009. Vol. 70, issue 15. P. 1858–1866.
8. Valli S. Antimicrobial potential of Actinomycetes species isolated from marine environment // Asian Pacific journal of tropical biomedicine. 2012. Vol. 2, issue 6. P. 469–473.

STRAINS OF ACTINOMYCETES, ISOLATED FROM THE BAIKAL MACROINVERTEBRATES, LIKE THE PROSPECTIVE SOURCE FOR SEARCHING OF BIOACTIVE SUBSTANCES

I. V. VOYTSEKHOVSKAYA, D. V. AXENOV-GRIBANOV

*Irkutsk State University, Irkutsk
Research institute of Biology, Irkutsk*

Summary. This article provides results of the screening and an analysis of biosynthetic potential of actinomycetes, isolated from the Baikal macroinvertebrates. An analysis of mass-spec chromatograms extracts, had demonstrated that percent of identified compounds amounted to 9% (n=14), while percent of unidentified compounds amounted to 91% (n=141). Some of these identified compounds, isolated from the biomass and culture broth of the strains, had recently discovered in macroinvertebrates.

ОСОБЕННОСТИ СОСТАВА И СТРУКТУРЫ ГЛИКОПОЛИМЕРОВ ПОВЕРХНОСТИ И МАТРИКСА БИОПЛЕНОК БАКТЕРИЙ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE* SP245

**С. С. ЕВСТИГНЕЕВА¹, Я. В. ХАЛЭПА², Ю. П. ФЕДОНЕНКО¹,
С. А. КОННОВА², В. В. ИГНАТОВ¹**

¹ *Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов*

² *Саратовский государственный университет*

E-mail: Stels20295@yandex.ru

В лабораторной микробиологической практике обычно используют планктонные (суспензионные) культуры бактерий при изучении динамики роста, получении биомассы клеток, анализе качественного и количественного состава клеточных компонентов и метаболитов. Однако в природных условиях большинство бактерий (95–99 %) формируют биопленки [1, 2], которые представляют собой непрерывный сформированный на разделе фаз мультислой клеток, погруженных во внеклеточный полимерный матрикс [2]. Матрикс представлен веществами углеводной и белковой природы, выделяемыми клетками в процессе организации бактериального сообщества, участвует в их пространственной стабилизации и выполняет протекторную функцию [4]. Образование биопленок способствует выживанию бактерий в естественных местах обитания, что подтверждается данными о повышенной устойчивости иммобилизованных культур к стрессовым воздействиям [5].