

## Бактерии рода *Azospirillum*: новые местообитания и новые свойства

Тихонова Е.Н., Хуснетдинова К.А., Кравченко И.К.

Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН» (ФИЦ Биотехнологии РАН),  
Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, г. Москва; [katerina\\_inmi@mail.ru](mailto:katerina_inmi@mail.ru)

Бактерии рода *Azospirillum*, наряду с псевдомонадами и бациллами, являются одними из наиболее интенсивно исследуемых ассоциативных партнеров растений. Они стимулируют рост и развитие растений, колонизируя поверхности корней и стеблей, а также внутренние ткани корня без образования специализированных структур. Это обуславливает широкое применение азоспирилл в качестве биоудобрений [1].

В настоящее время известно 17 валидно описанных азоспирилл, причем значительная их часть была выделена из ризосферы дикорастущих или сельскохозяйственных растений. Несмотря на многочисленные экологические исследования, информация о существовании *Azospirillum* вне ризосферы и филлосферы высших растений весьма ограничена. В последние годы появились данные о выделении азоспирилл из нетипичных для них местобитаний. *A. rugosum* [2] и *A. picis* [3] были выделены из загрязненной нефтью почвы и дорожной смолы, соответственно. *A. thiophilum* выделена из серного источника Ставропольского края и продемонстрировала способность к литогетеротрофному росту в микроаэрофильных условиях с одновременным использованием органических субстратов и тиосульфата в качестве донора электронов [4]. *A. humicireducens* [5] была изолирована с поверхности электрода микробного топливного элемента.

В 2007 году нами впервые были выделены штаммы *Azospirillum* sp. B2, B21, B22 из почвы кислого верхового болота Тверской области как компоненты накопительных метанооксиляющих культур [6]. Стоит отметить, что попытки выделения бактерий рода *Azospirillum* непосредственно из этих образцов торфа не увенчались успехом. В 2018 году из образца торфа, отобранного из осушенного болота Московской области, был выделен штамм *Azospirillum* sp. Sh 1.

Нами была высказана гипотеза, что метаболическая пластичность азоспирилл позволяет им выживать в необычных условиях кислых болот при отсутствии высших сосудистых растений. Одним из способов такого приспособления может быть использование одноуглеродных соединений, в первую очередь метанола, который может образовываться как промежуточный продукт микробного окисления метана в условиях недостатка кислорода, а также за счет микробного разложения пектиновых веществ. В качестве популяционного механизма реализации этой возможности рассматривается образование ассоциаций с метанотрофными бактериями [7].

Способность к метилотрофии у бактерий рода *Azospirillum* была подтверждена результатами физиологических и генетических тестов. Анализ тотальных геномов показал, что процесс окисления метанола у азоспирилл, выделенных из болот, осуществляется разными ферментными системами. Так для штаммов *Azospirillum* sp. B21 и B22, как и у большинства метилотрофных бактерий, установлено наличие как MxaF и HoxF генов. В то же время, у *Azospirillum* sp. B2 обнаружен только ген HoxF [8], что ранее было показано исключительно для метанотрофных веррукобактерий.

Анализ полученных изолятов показал, что они относятся как к известным видам, так и к новым. Штаммы B21 и B22 по данным анализа геномов относятся к *Azospirillum oryzae* [9]. Штамм B2 описан нами как в качестве нового вида *Azospirillum palustre* [10]. *Azospirillum* sp. Sh1 также относится к новому виду и находится в процессе описания [9].

Расширение сведений о местах обитания влечет за собой развитие взглядов на прикладные свойства этой группы организмов. Установлено, что азоспириллы могут образовывать ассоциации не только с высшими растениями, но и с цианобактериями [11].

Выделение физиологически активных веществ азоспириллами стимулирует рост микроводорослей, что способствует улучшению производительности для биотехнологических применений. Способность к образованию азоспириллами экзополисахаридов в ассоциации с метилотрофами позволяет сообществу выживать в форме биопленок, что обеспечивает лучший срок хранения и снижение стресса у инокулированных растений [12].

В ходе изучения физиологических и ростовых характеристик штамма *Azospirillum* sp. Sh1 обнаружено, что при использовании метанола в качестве источника углерода продуцируется большое количество полигидроксиалканатов (ПГА), которые в настоящее время являются перспективным сырьем для производства биоразлагаемого пластика, применяемого в производстве различных продуктов [13]. Использование метанола в качестве дешевого субстрата открывает новые возможности решения новых биотехнологических задач с участием бактерий рода *Azospirillum*.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 18-34-00390.*

### Литература

1. Евстигнеева С.С., Федоренко Ю.П. Биотехнологический потенциал бактерий рода *Azospirillum*: Характеристика флокулирующих культур как наиболее перспективных форм для инокуляции растений. *Актуальная биотехнология*. 2018. 3 (26): 98-102.
2. Young C.C., Hupfer H., Siering C., Ho M.J., Arun A.B. et al. *Azospirillum rugosum* sp. nov., isolated from oil-contaminated soil. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2008. 58: 959–963.
3. Lin S.Y., Young C.C., Hupfer H., Siering C., Arun A.B. et al. *Azospirillum picis* sp. nov., isolated from discarded tar. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2009. 59: 761–765.
4. Lavrinenko K., Chernousova E., Gridneva E., Dubinina G., Akimov V. et al. *Azospirillum thiophilum* sp. nov., a diazotrophic bacterium isolated from a sulfide spring. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2010. 60: 2832–2837.
5. Zhou S., Han L., Wang Y., Yang G., Zhuang L. et al. *Azospirillum humicireducens* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a microbial fuel cell. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2013. 63: 2618–2624.
6. Дорошенко Е.В., Булыгина Е.С., Спиридонова Е.М., Турова Т.П., Кравченко И.К. Выделение и характеристика азотфиксирующих бактерий рода *Azospirillum* из почвы сфагнового болота. *Микробиология* 2007. 76(1): 107–115.
7. Хуснетдинова К.А., Тихонова Е.Н. Азотфиксирующие бактерии рода *Azospirillum* как компонент микробных сообществ сфагнового болота. В сборнике *Науки о биосфере: инновации / серия: Ecological Studies, Hazards, Solutions. Volume 25*. Отв. редакторы С.Н.Орлов, С.В.Котелевцев, С. А. Остроумов, О.М.Горшкова, М.: МАКС Пресс, 2018. 182-185.
8. Grouzdev D.S., Tikhonova E.N., Krutkina M.S., Kravchenko I.K. Genome Sequence of Methylophilic *Azospirillum* sp. Strain B2, Isolated from a Raised *Sphagnum* Bog. *Genome Announcements*. 2018. 6 (23): e00492-18.
9. Grouzdev D.S., Tikhonova E.N., Kravchenko I.K. Genome Sequences of Type Strains *Azospirillum lipoferum* 59b<sup>T</sup> and *Azospirillum oryzae* COC8<sup>T</sup>, and Novel *Azospirillum* sp. Strains B21 and Sh1, Isolated from Raised *Sphagnum* Bogs. *Microbiology Resource Announcements*, in press.
10. Tikhonova E.N., Grouzdev D.S., Kravchenko I.K. *Azospirillum palustre* sp.nov., a methylophilic nitrogen-fixing species isolated from raised bog. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2019.69(9): 2787-2793.
11. Amavizca E., Bashan Y., Ryu C.-M., Farag M.A., Bebout B.M., de-Bashan L.E. Enhanced performance of the microalga *Chlorella sorokiniana* remotely induced by the plant growth-

- promoting bacteria *Azospirillum brasilense* and *Bacillus pumilus*. Scientific Reports. 2016. 7: 41310.
12. Joe M.M., Saravanan V.S., Islam M.R., Sa T. Development of alginate-based aggregate inoculants of *Methylobacterium* sp. and *Azospirillum brasilense* tested under in vitro conditions to promote plant growth. Journal of Applied Microbiology. 2013. (116): 408-423.
  13. Волова Т.Г. Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксиалканоатов. Journal of Siberian Federal University. Biology. 2014. (7): 103-133.