

# Геномная характеристика метилотрофа '*Hansschlegelia quercus*' Dub как фитосимбионта

Агафонова Н.В., Капаруллина Е. Н., Доронина Н. В.

ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»,  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,  
г. Пущино; nadyagafonova@gmail.com

Аэробные метилотрофные бактерии – одна из функционально важных групп микроорганизмов. Метилотрофы являются фитосимбионтами, поскольку используют метанол и другие окисленные и замещенные производные метана (естественные продукты метаболизма растений) в качестве источников углерода и энергии, и, в свою очередь, синтезируют вещества, стимулирующие рост и развитие растений (Агафонова и др., 2013; Доронина и др., 2015; Агафонова и др., 2016). Недавно из почек дуба (*Quercus robur* L.) нами выделен новый представитель рода *Hansschlegelia* – '*Hansschlegelia quercus*' Dub (= VKM В-3284 = CCUG 73648 = JCM 33463). Для определения биотехнологического потенциала исследуемого штамма в данной работе мы проанализировали его геном (номер проекта SIUB00000000.1 в DDBJ/ENA/GenBank) на наличие некоторых метаболитов и ферментов, участвующих в фитосимбиозе.

Фитогормоны ауксины – регуляторы роста и развития растений, активируют рост, корнеобразование, формирование проводящих тканей. Известно два основных пути биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты – самого распространенного природного ауксина – триптофан-зависимый путь и триптофан-независимый. Гены, кодирующие ключевые ферменты вариантов триптофан-зависимого пути: триптофан-2-монооксигеназы (*iaaM*), индолилпируватдекарбоксилазы (*ipdC*), триптофандекарбоксилазы, в геноме '*H. quercus*' Dub не были обнаружены. Следовательно, наиболее вероятным путем синтеза индолов у исследуемого штамма является триптофан-независимый, поскольку найдены гены ключевых ферментов этого пути: антранилатсинтазы (*trpE*, EYR15\_16820), антранилатфосфорибозилтрансферазы (*trpD*, EYR15\_16815), индол-3-глицерофосфатсинтазы (*trpC*, EYR15\_16810), триптофансинтазы  $\alpha$  и  $\beta$  (*trpA*, EYR15\_09625 и *trpB*, EYR15\_09630).

Другой класс фитогормонов – цитокинины – стимулируют рост и деление клеток, улучшают процессы фотосинтеза растений. Эти гормоны могут синтезироваться двумя путями: *de novo*, посредством изопентинилтрансфераз, катализирующих образование изопентениладенозин-монофосфата из АМФ и диметилаллилпирофосфата или путем изопентилирования аденинового основания, прикрепленного к антикодоновой петле некоторых тРНК, с помощью фермента тРНК-изопентинилтрансферазы (тРНК-ИПТ). Наличие в геноме '*H. quercus*' Dub гена *miaA* (EYR15\_01900), кодирующего тРНК-ИПТ, указывает на возможность синтеза цитокининов вторым путем.

Высшие растения зависят от внешних источников витамина В<sub>12</sub>. Обнаружено, что '*H. quercus*' Dub способен к образованию витамина В<sub>12</sub>, или кобаламина, который участвует в реакциях изомеризации и трансметилирования у растений. В геноме метилотрофа содержатся кластеры генов *cobJHG* (EYR15\_05475 - 05490), *cobMLKA* (EYR15\_05530 - 05545), *cobUWNOD* (EYR15\_05905 - 05930), *cobST* (EYR15\_12025 - 12030), вовлеченные в биосинтез витамина В<sub>12</sub>.

Вместе с тем, согласно геномным данным, исследуемый штамм обладает фосфатсольбилизирующей активностью, поскольку найдены гены синтеза экзополифосфатазы (EYR15\_05300), неорганической дифосфатазы (EYR15\_08335), пирофосфатазы (EYR15\_02470), кислой фосфатазы (EYR15\_14065) и *phn* оперон (*phnCDEEFGHIJKLMN*, EYR15\_12800 - 12860), кодирующий С-Р-лиазный комплекс, известный широким спектром разлагаемых фосфонатов.

В результате геномного анализа у '*H. quercus*' Dub не обнаружены гены синтеза дезаминазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (*acdS*), снижающей концентрацию этилена (гормона старения растений), и D-цистеиндесульфогидразы (*dcyD*), предположительно участвующей в формировании ассоциации бактерий с растениями. Однако наличие в геноме гена синтеза 4-гидроксибензоата полипренилтрансферазы (*ubiA*, EYR15\_02360), предшественник которого (4-гидроксибензоат) имеет антимикробную активность, отражает возможность конкурентной колонизации исследуемым метилотрофом поверхности растений.

Выявлена способность штамма '*H. quercus*' Dub накапливать полигидроксибутират (ПГБ) в качестве внутриклеточного запасного источника углерода и энергии, расходуемого при неблагоприятных условиях, поскольку обнаружены гены, катализирующие реакции биосинтеза ПГБ: *phaA* и *phaB* (EYR15\_14455 - 14460), регуляторный белок PhaR (EYR15\_14470) и поли-3-гидроксиалканоатсинтазу (*phaC*, EYR15\_04745). Кроме того, известно, что мономер ПГБ – оксибутират является химическим шапероном, универсальным биопротектором, который важен как для самих бактерий, так и для колонизируемых ими растений.

Таким образом, в результате проведенного анализа генома показано, что метилотроф '*Hansschlegelia quercus*' Dub способен стимулировать рост растений, благодаря синтезу фитогормонов, витамина В<sub>12</sub> и повышению биодоступности фосфора в почве, оказывать конкурентное воздействие на другие микроорганизмы при колонизации растений, переживать неблагоприятные условия среды за счет накопления ПГБ. Выявленные механизмы жизненно необходимы при фитосимбиозе метилотрофа с высшими растениями, откуда исследуемый штамм был выделен. Подобная молекулярно-генетическая характеристика позволяет не только определить возможные механизмы положительного влияния бактерий на рост растений и их симбиотическую связь, но и использовать эти данные для создания штаммов с улучшенными свойствами при производстве эффективных препаратов стимуляторов роста растений.

#### Литература

1. Агафонова Н.В., Капаруллина Е.Н., Доронина Н.В., Троценко Ю.А.. Фосфатсольюбилизирующая активность аэробных метилобактерий // Микробиология. 2014. Т. 83. № 1. С. 28–32.
2. Доронина Н.В., Торгонская М.Л., Федоров Д.Н., Троценко Ю.А. Аэробные метилобактерии – перспективные объекты современной биотехнологии (обзор) // Прикл. биохим. и микробиол. 2015. Т. 51. № 2. С. 111-121.
3. Агафонова Н.В., Доронина Н.В., Троценко Ю.А.. Повышение устойчивости растений гороха к окислительному стрессу, вызванному паракватом, при колонизации аэробными метилобактериями // Прикладная биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 2. С. 210–216.