

**Генетический и метаболический потенциал фитопротекторного штамма
Bacillus velezensis X-BIO-1.**

Научный руководитель – Васильченко Алексей Сергеевич

Кравченко Сергей Викторович

Аспирант

Тюменский государственный университет, Институт экологической и
сельскохозяйственной биологии (X-BIO), Тюмень, Россия

E-mail: svkraft@yandex.ru

Проблемы экологической безопасности все острее стоят перед человеком во всех сферах его жизнедеятельности. В частности, в мировой практике для защиты сельскохозяйственных и лесных культур от болезней и растительноядных насекомых используют преимущественно синтетические пестициды, что приводит к возрастанию экологической напряженности лесных и аграрных экосистем. Химические пестициды накапливаются в почве, водоемах, грунтовых водах, загрязняя окружающую среду. Остаточные количества синтетических химикатов в продуктах питания наносят непосредственный ущерб здоровью людей (Carvalho F. P., 2017; Nelson R. et al., 2018). Одним из вариантов борьбы с возрастающим химическим давлением на экосистемы является использование биологических препаратов на основе непатогенных бактерий с целью регулирования численности фитофагов, фитопатогенов и растительноядных насекомых. Микроорганизмы резидентной почвенной микробиоты и их метаболиты часто бывают менее токсичны и влияют на меньшее количество нецелевых организмов по сравнению с конвенциональными синтетическими пестицидами. Кроме того, они могут быть эффективны в небольших количествах и являются биоразлагаемыми, что позволяет решить проблему загрязнения окружающей среды (Vessey J.K., 2003).

Одними из наиболее перспективных микроорганизмов в создании биопестицидов, являются бактерии из рода *Bacillus* (Штерншис М. В., 2016). Различные штаммы *Bacillus* sp. способны синтезировать различные типы вторичных метаболитов со специфической активностью против патогенов растений, включая многие сильнодействующие амфифильные и поверхностно-активные липопептиды, такие как бацилломицины, итурины, сурфактины и микосубтилин (Gong A.D. et al., 2015). Дополнительным преимуществом бацилл является спорообразование, которое увеличивает жизнеспособность и сохраняемость этих бактерий в окружающей среде (Chowdhury, S.P. et al., 2013). Поскольку *Bacillus* sp. являются естественными обитателями микоризы растений, агенты биоконтроля на основе спор *Bacillus* sp. практически не влияют на состав микробных сообществ корней растений (Wu L. et al., 2015).

Исследуемый нами штамм, *B. velezensis* X-BIO-1, был выделен из почвы на территории Краснодарского края сотрудниками лаборатории антимикробной резистентности Тюменского государственного университета и проведена работа по определению антагонистической активности данной культуры в отношении спектра бактерий и грибов. Установлено, что штамм *B. velezensis* X-BIO-1 подавляет рост таких условных-патогенов как *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* (включая MRSA), *Pseudomonas aeruginosa*, *Pectobacterium carotovorum*, *Listeria monocytogenes*, *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp.

В результате комплекса процедур по очистке и выделению целевых метаболитов, было установлено способность штамма к продукции нескольких различных по спектру активности и физико-химическим свойствам антимикробных веществ.

Параллельно с этим, было проведено shotgun-секвенирование генома выделенного штамма. Собранная последовательность генома штамма *B. velezensis* X-ВЮ_1 была депонирована в базе данных GenBank под номером доступа JACVAX000000000.1. В результате анализа полной нуклеотидной последовательности генома *B. velezensis* X-ВЮ_1 определены ключевые генетические локусы, детерминирующие синтез антимикробных метаболитов: липопептидов (сурфактин), дипептида (бацилизин), сидерофора (бациллибактин), поликетидных антибиотиков (бациллен и макролактин).

Таким образом, данные геномного и метаболомного анализа свидетельствуют, что исследуемый штамм обладает потенциалом синтезировать одновременно несколько антимикробных веществ различной природы и спектра действия, что делает его перспективным для производства на его основе антимикробных препаратов. В связи с этим представляет интерес определение структуры вторичных метаболитов исследуемого штамма как для оценки экспрессивности выявленных генетических детерминант антибиотико-продукции, так и для обнаружения новых антимикробных соединений.

Полученные антимикробные препараты будут использованы для дальнейшего исследования с целью создания новых биопестицидов.

Источники и литература

- 1) Лемяк, А. А. Антагонистический потенциал сибирских штаммов *Bacillus* spp. в отношении возбудителей болезней животных и растений / А. А. Лемяк, М. В. Штерншиц // *J. of Biology*. – 2014. – № 1. – С. 42–55.
- 2) Carvalho F. P. Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security* 6, 48–60, <https://doi.org/10.1002/fes3.108> (2017)
- 3) Gong AD, Li HP, Yuan QS, Song XS, Yao W, He WJ, et al. Antagonistic mechanism of iturin a and plipastatin a from *Bacillus amyloliquefaciens* S76- 3 from wheat spikes against *Fusarium graminearum*. *PLoS One*. 2015;10: e0116871.
- 4) Chowdhury, S.P.; Dietel, K.; Rändler, M.; Schmid, M.; Junge, H.; Borriss, R.; Hartmann, A.; Grosch, R. Effects of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 on Lettuce growth and health under pathogen pressure and its impact on the rhizosphere bacterial community. *PLoS ONE* 2013, 8, 1–10
- 5) Nelson R., Wiesner-Hanks T., Wisser R., Balint-Kurti P. Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nature reviews. Genetics* 19, 21–33, <https://doi.org/10.1038/nrg.2017.82> (2018)
- 6) Ongena, M.; Jacques, P. *Bacillus* lipopeptides: Versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends Microbiol.* 2008, 16, 115–125.
- 7) Oddo A., Hansen P.R. Hemolytic Activity of Antimicrobial Peptides. in PR Hansen (ed.) // *Methods in molecular biology*. 2017. vol. 1548. P. 427-435.
- 8) Rabbee M.F., Ali Md.S., Choi J., Hwang B.Su., Jeong S.Ch., Baek K. 2019. *Bacillus velezensis*: A Valuable Member of Bioactive Molecules within Plant Microbiomes. *Molecules*. 24, 1046; doi:10.3390/molecules24061046
- 9) Ruiz-García C, Béjar V, Martínez-Checa F, Llamas I, Quesada E. *Bacillus velezensis* sp. nov., a surfactant-producing bacterium isolated from the river Vélez in Málaga, southern Spain. *Int J Syst Evol Micr.* 2005;55:191–5.
- 10) Vessey JK. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil*. 2003;255:571–86

- 11) Wu, L.; Wu, H.J.; Qiao, J.; Gao, X.; Borriss, R. Novel routes for improving biocontrol activity of Bacillus based bioinoculants. *Front. Microbiol.* 2015, 6, 1–13. [CrossRef]