

НОВЫЙ МЕТАНОТРОФ ИЗ ИЛА ПРЕСНОВОДНОГО ОЗЕРА

Е.Н. Капаруллина, Н.В. Доронина

Пуцинский научный центр биологических исследований РАН, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, Пушкино, Россия

Аэробные метанотрофы – уникальные микроорганизмы, структурно и функционально специализированные на использовании метана в качестве источника углерода и энергии (Hanson, Hanson, 1996; Троценко и др., 2010). Метанотрофы широко распространены в различных экосистемах, включая водные (реки, озера, болота), играют важную роль в глобальных циклах углерода и азота, снижении выбросов антропогенного и природного парникового газа метана и имеют большой биотехнологический потенциал. Метанотрофные бактерии относятся к филуму *Pseudomonadota* и двум классам *Alphaproteobacteria* и *Gammaproteobacteria*, а также ацидофильному филуму *Verrucomicrobiota* (Op den Camp et al. 2009; Хмеленина и др., 2018).

Цель работы – выделение и характеристика нового метанотрофа из ила пресноводного озера.

Новый штамм ВКМ В-3616 выделен из образца ила пресноводного озера (Центральный парк, Ташкент, Узбекистан). Пробу ила (0.5 г.) отбирали на глубине 30 см и помещали в колбу Эрленмейера объемом 750 мл со 100 мл стерильной минеральной среды «NMS» и инкубировали в атмосфере метан:воздух (1:1) при 29 °С две недели. Чистую культуру выделяли из единичных колоний с агаризованной среды «NMS» при высеве жидкой культуры после ряда пересевов и пассажей в атмосфере метана. Филогенетическое положение штамма определяли известными методами (Kaparullina et al., 2018).

Новый изолят представлен грамотрицательными короткими плеоморфными неподвижными палочками со II типом ВЦМ, колонии на «NMS» среде, выращенные в атмосфере метана, круглые, молочно-белые, с ровным краем, с выпуклым профилем, гладкой поверхностью и однородной структурой. Аэроб, оксидазо- и каталазоположителен, восстанавливает нитраты. Растет при 10–37°C (оптимально 28–30°C) и pH 4.5–9.5 (7.0–7.5), в присутствии 0–1 % NaCl (0.5 % NaCl). Использует C₁-субстраты (метан и метанол) в качестве источников углерода и энергии. Обладает pMMO и ассимилирует C₁-соединения в сериновом цикле. Не способен расти на ацетате, этаноле и других полиуглеродных соединениях. В качестве источников азота использует соли аммония, нитраты, медленно мочевины и аминокислоты (L-глутамин, L-аргинин, L-аланин), а также дрожжевой экстракт. Основной хинон Q-8. Доминирующие жирные кислоты C_{18:1ω8c} и C_{18:1ω7c}. Синтезирует поли-3-гидроксibuтират. На основании секвенирования гена 16S рPHK штамм ВКМ В-3616 имеет наибольшее сходство 96.5–98.3 % с представителями рода *Methylocystis*. Данный уровень сходства ниже порогового значения (98.65 %), рекомендованного для разделения видов (Chun et al., 2018). Кроме того, филогенетический анализ метанмонооксигеназы PmoA показал, что штамм ВКМ В-3616 тесно связан с представителями рода *Methylocystis* (*M. hirsuta* CSC1^T, *M. silviterrae* FS^T, *M. rosea* SV97^T и *M. suflitae* NLS-7^T). Геном имеет общую длину 3,34 Mbp, содержание G + C составляет 63.4 %. Последовательности гена 16S рPHK и генома доступны в базе данных NCBI GenBank под номерами PP341305 и JAZHYN0000000000. Средние значения ANI и dDDH между штаммом ВКМ В-3616 и близкородственными типовыми штаммами рода *Methylocystis* составили 78,0–82,4 % и 20,9–24,3 % соответственно, что ниже предложенных пороговых значений для видов. Таким образом, штамм ВКМ В-3616 представляет новый вид рода *Methylocystis*, для которого предложено название *Methylocystis borbori* sp. nov. Геном штамма ВКМ В-3616 содержит гены, кодирующие арсенатредуктазу (*arsC*, V3H18_RS05735, V3H18_RS16165) и арсенит транспортер семейства ACR3 (V3H18_RS05730), участвующие в нейтрализации токсичного мышьяка, гены детоксикации цианидов, цианид-3-меркаптопируват серотрансферазы (*sseA*, V3H18_RS04225, V3H18_RS15065) и роданазы (V3H18_RS01555, V3H18_RS00165), которые катализируют превращение цианида в тиоцианат. Кроме того, в геноме присутствуют гены устойчивости к теллуриду (*terB*, V3H18_RS00065) и меди *copC*, V3H18_RS03640). Геномный анализ продемонстрировал способность штамма адаптироваться к различным условиям среды обитания и участвовать в биоремедиации некоторых токсичных соединений.