

Новые виды аэробных метилотрофных бактерий: *Methylobacillus methanolivorans* sp. nov. и *Methylobacillus caricis* sp. nov.

Агафонова Н. В., Капаруллина Е. Н., Доронина Н. В., Троценко Ю. А.

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

Семейство *Methylophilaceae* относится к порядку *Methylophilales*, включает в себя три рода: *Methylophilus*, *Methylobacillus* и *Methylovorus*. В настоящее время род *Methylobacillus* представлен шестью видами аэробных, грамотрицательных облигатных и ограниченно факультативных метилотрофных бактерий: *M. glycogenes* TK0113^T (Yordy, Weaver, 1977; Urakami, Komagata, 1986), *M. flagellatus* KT^T (Говорухина с соавт., 1987), *M. pratensis* F31^T (Doronina et al., 2004), *M. arboreus* Iva^T, *M. gramineus* Lap^T (Gogleva et al., 2011), *M. rhizosphaerae* Ca-68^T (Madhaiyan et al., 2013). На среде с метанолом в качестве единственного источника углерода и энергии нами выделены облигатно-метилотрофные штаммы Z (из активного ила очистных сооружений Байкальского целлюлозно-бумажного комбината, Иркутская область) и OV (из корней осоки *Carex* sp., отобранных в окрестностях г. Пушкино, Московская область).

Цель работы – физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика новых аэробных метилотрофных изолятов – штаммов Z и OV.

Новые изоляты представлены грамотрицательными неспорообразующими подвижными палочками, размножаются бинарным делением. Штамм Z оптимально растет при температуре 29-35°C и pH 6.5-7.5, рост ингибируется 1% NaCl; для штамма OV оптимальная температура – 22-29°C, pH 7.5-8.5, рост ингибируется присутствием 3.5% NaCl в среде. При росте на среде с метанолом в жирнокислотном составе клеток штаммов Z и OV преобладают гексадекановая C_{16:0} (44.5 и 45.5%, соответственно) и цис-9-гексадеценная C_{16:1ω7c} (44.2 и 40.7%, соответственно) кислоты, основной убихинон Q₈. Доминирующие фосфолипиды – фосфатидилэтаноламин, фосфатидилглицерин и дифосфатидилглицерин. Энзимологический анализ показал, что оба штамма окисляют метанол классической метанолдегидрогеназой и реализуют рибулозомонофосфатный путь (РМФ) C₁-метаболизма, о чем свидетельствуют активности ключевого фермента гексулозофосфатсинтазы, а также дегидрогеназ глюкозо-6-фосфата и 6-фосфоглюконата. Штаммы реализуют КДФГА-вариант РМФ-пути C₁-метаболизма, т.к. обнаружена активность 2-кето-3 дезокси-6-фосфоглюконатальдозазы.

Исследуемые штаммы имели высокий уровень сходства нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК с таковыми у представителей рода *Methylobacillus*: штамм Z – 98,9% с *M. flagellatus* KT^T, штамм OV – 99,6% с *M. gramineus* Lap^T и 98,7% с *M. glycogenes* TK0113^T. Однако согласно ДНК-ДНК гибридизации, уровень гомологии между штаммом Z и *M. flagellatus* KT^T составил всего 24%, между штаммом OV и *M. gramineus* Lap^T – лишь 52%, что свидетельствует о принадлежности штаммов к разным видам. Содержание Г+Ц в ДНК у штаммов Z и OV составило 51.0 и 51.4 мол. % (T_{пл}), соответственно. Сравнительный анализ аминокислотных последовательностей белка MxaF показал, что штаммы Z и OV имеют наибольшее сходство с *Methylobacillus glycogenes* TK0113^T (99.1 % и 100%, соответственно).

Для определения генотипических различий между штаммом OV и *M. gramineus* Lap^T и *M. glycogenes* TK 0113^T использовали также метод случайно амплифицируемой полиморфной ДНК (RAPD-анализ). Результаты RAPD-анализа показали, что штаммы OV, Lap^T и TK 0113^T имеют различные паттерны продуктов амплификации, что подтверждает их принадлежность к разным видам.

Таким образом, на основании исследования фено- и генотипических признаков штаммы Z и OV отнесены к новым видам рода *Methylobacillus* – *Methylobacillus methanolivorans* sp. nov. и '*Methylobacillus caricis*' sp. nov., соответственно.

Последовательности генов 16S рРНК и *mxaF* штамма Z^T депонированы в GenBank под номерами KX057479 и KX256483, соответственно. Последовательности генов 16S рРНК и *mxaF* штамма OV депонированы в GenBank под номерами KY806199 и KY807769, соответственно. Типовые штаммы представлены в международных коллекциях микроорганизмов *Methylobacillus methanolivorans* Z^T (= VKM В-3037^T = JCM 31401^T = CCUG 68999^T) и '*Methylobacillus caricis*' OV (= VKM В-3158 = JCM 32031 = CCUG 70601).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-04-00381_a.

