



РОССИЙСКИЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНГРЕСС

17–18 октября 2017, г. Пущино



МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА

Запашка в почву соломы зерновых культур может быть эффективным способом поддержания и восстановления плодородия. В настоящее время активно развивается биологическое земледелие, выделяются новые штаммы микроорганизмов, появляются биопрепараты, способные значительно повысить эффективность применения растительных остатков соломы. Для каждого конкретного типа почв должны быть предусмотрены характерные для него способы заделки побочной продукции. Для чернозёма выщелоченного с этой целью можно использовать аборигенный штамм целлюлозолитического микромицета *Humicola fuscoatra* ВНИИСС 016, который был выделен из чернозёма выщелоченного в лаборатории эколого-микробиологических исследований почв ВНИИСС им. А.Л. Мазлумова.

В лабораторных условиях был проведен опыт по изучению динамики убыли массы соломы. Остатки соломы после уборки урожая измельчали, затем 4 г растительных остатков помещали в чашки Петри, увлажняли до 60% ППВ и оставляли в термостате на 2 месяца. В результате исследований было установлено, что при использовании *Humicola fuscoatra* происходит увеличение скорости деструкции соломы озимой пшеницы на 44,9% и соломы ячменя на 56,0%.

В 2011 году на новом опытном поле ВНИИСС был заложен многолетний полевой опыт с запашкой соломы озимой пшеницы и ячменя в соответствии с ротацией зернопаропропашного севооборота (пар–озимая пшеница–сахарная свёкла–ячмень). Общая площадь полевого опыта составила 1209,6 м², площадь делянки – 75,6 м². Норма внесения соломы – 4-5 т/га, азотного удобрения – 40 кг д.в. на гектар, питательной добавки (ПК) – 200 л/га (1:1000).

В результате исследований установлено, что запашка соломы озимой пшеницы и ячменя с целлюлозолитическим микромицетом, способствует созданию благоприятных условий для развития основных таксономических, физиологических и эколого-трофических групп микроорганизмов и, в частности, принимающих участие в трансформации соединений углерода в почве (зимогенной и целлюлозоразрушающей). При использовании *Humicola fuscoatra* выявлено увеличение активности ферментов, отвечающих за синтез гумусовых веществ и, как следствие, повышение содержания гумусовых веществ в почве. Установлено также положительное влияние такой технологии на улучшение фотосинтетических процессов в листовом аппарате сахарной свеклы вследствие более активной эмиссии углекислого газа из почвы. Коэффициент продуктивности фотосинтеза составил 7,00, в то время как при использовании одной соломы – 3,98, что, в конечном итоге, сказывалось и на урожайности культуры, которая была выше контроля на 29,1%, использования одной соломы – на 24,9, соломы с азотным удобрением – на 20,0%.

Таким образом, представляется возможным внедрение *Humicola fuscoatra* для создания микробиологического препарата, который может быть использован для ускорения разложения соломы зерновых культур и в результате – повышения почвенного плодородия.

Экзогенная бактериальная рибонуклеаза оказывает противогриппозное действие при проникновении в клетки эукариот

Шах Махмуд Р.¹, Ульянова В.В.¹, Мустафа А.², Ильинская О.Н.¹

¹Кафедра микробиологии ИФМиБ, Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, raihan.shah@gmail.com

²Институт медицинской вирусологии, Гиссенский университет имени Юстуса и Либига, Шуберт Гиссен, Германия

Рибонуклеаза *Bacillus pumilus* (биназа) проявляет противовирусное действие в отношении различных вирусов в организме животных и культуре клеток. Несмотря на многочисленные работы, противовирусные мишени биназы до сих пор не установлены. В связи с этим целью настоящей работы явилось установление действия биназы против пандемического вируса гриппа А (H1N1) на молекулярном уровне.

В исследовании мы использовали легочные клетки человека A549 и вирус гриппа А (H1N1pdm). Влияние биназы на капсид-защищенный вирус и мРНК вируса в клетках проверяли методами ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР в реальном времени, соответственно. Обработку зараженных клеток биназой (1-10 мкг/мл) проводили тремя способами: 1) клетки преинкубировали с биназой в течение 4 ч до заражения, 2) биназу преинкубировали с вирусом в течение 45 мин до

заражения клеток, 3) биназу добавляли без преинкубации. После заражения в каждом случае клетки инкубировали в течение 12 или 24 ч.

Было установлено, что концентрация биназы 10 мкг/мл, не являющаяся токсичной по отношению к клеткам, не разрушала кодируемый вирусной РНК белок РВ2 у капсид-защищенного вируса вне клеток. Биназа подавляла накопление вирусных мРНК, кодирующих белок NP в вирус-зараженных и биназа-обработанных клетках после одноциклового (12 ч) размножения вируса. Рибонуклеаза в концентрации 1-10 мкг/мл более чем 1,7 раз снижала титр вируса во всех трех вариантах эксперимента. Фермент в концентрации 10 мкг/мл являлся более эффективным при многоциклового (24 ч) размножении вируса в случае пре-инкубации биназы с вирусом или клетками. Не контактируя с вирионами вне клеток, биназа (10 мкг/мл) при проникновении в клетки подавляла репродукцию дочерних вирусов в 2,6 раз после многоциклового размножения вируса. Во время пре-инкубации биназы с вирусом, биназа (10 мкг/мл) подавляла титра вируса в клеточной среде в 2,5 и 2,7 раз после одно- и многоциклового размножения вируса, соответственно.

Полученные нами результаты подтверждают, что отсутствует прямое действие биназы на интактный вирус H1N1pdm, биназа действует на вирус внутри клеток A549. Таким образом, наше исследование подтверждает, что биназу можно использовать против вируса гриппа независимо от его антигенного разнообразия для профилактики гриппа или после заражения вирусом. Наиболее эффективное действие против вируса гриппа биназа оказывает непосредственно в момент заражения.

Особенности генетической организации локуса *LtbR* коринеформных штаммов и его модификации, приводящие к увеличению биосинтеза лизина

Шустикова Т.Е., Рябченко Л.Е., Яненко А.С.

ФГБУ "Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов", Москва, genetika@genetika.ru, idenetic@yandex.ru

Незаменимую аминокислоту L-лизин, широко используемую в качестве кормовой добавки для животноводства и птицеводства, традиционно получают ферментацией сахаров с помощью коринеформных бактерий, таких как *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium flavum* и *Brevibacterium lactofermentum*. Современные штаммы, используемые для промышленного производства L-лизина, содержат комплекс мутаций в геноме, обеспечивающих сверхпродукцию L-лизина. К таким мутациям относятся модификации генов биосинтеза лизина, цикла трикарбоновых кислот, гликолиза, а также генов глобальных регуляторов.

Одним из таких регуляторов является транскрипционный регулятор *LtbR*, относящийся к IclR-семейству регуляторных белков. Он оказывает плеiotропный эффект на работу большого числа генов. Было проведено сравнение генетической организации локусов *LtbR* у разных штаммов *Corynebacterium glutamicum* и *Brevibacterium flavum*. Обнаружено, что последовательность гена *LtbR* на 99-100% идентична во всех штаммах, однако межгенные области (последовательности около 250 п.н., расположенные между генами *LtbR* и *LeuC*) различаются. У штамма *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032 в составе межгенной области содержатся две консенсусные последовательности в 12 п.н., расположенные непосредственно перед старт-кодонами генов *LtbR* и *LeuC*, с которыми предположительно связывается регуляторный белок *LtbR*. В то же время у штамма *Brevibacterium flavum* ATCC13869 межгенная область содержит только одну 12-нуклеотидную последовательность, расположенную на значительном расстоянии от старт-кодона гена *LeuC*.

На основе штамма ATCC13869 сконструированы продуценты лизина и изучено влияние модификаций как самого гена *LtbR* так межгенной области на продуктивность штамма. В результате работы обнаружено, что модификация или замена области, содержащей 12-нуклеотидную последовательность не сказывалась на продукции лизина, однако инактивация самого гена *LtbR* приводила к существенному увеличению биосинтеза лизина.