

УДК 579:873:579.222.2

DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-321-333.

О. В. Ястребова^a, Е. Г. Плотникова^{a,b}

^a «Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» - филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ БАКТЕРИЙ СЕМЕЙСТВА *MICROCOCCACEAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ БИОТОПОВ С РАЗЛИЧНЫМ АНТРОПОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ

Проанализированы данные по систематической принадлежности и распространению бактерий сем. *Micrococcaceae*, выделенных из экосистем с различной степенью антропогенной нагрузки (г. Пермь, Березники, Соликамск, Оса; Пермский край). Показано филогенетическое разнообразие и широкое распространение представителей семейства *Micrococcaceae* в различных биотопах района разработок Верхнекамского месторождения солей. Разнообразие видов бактерий семейства *Micrococcaceae* выявлено в почве и ризосфере растений, произрастающих вблизи солеотвалов. На основании анализа гена 16S рРНК исследуемые штаммы семейства *Micrococcaceae* были отнесены к семи родам: *Arthrobacter*, *Pseudoarthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Nesterenkonia*, *Rothia*. Исследуемые культивируемые бактерии семейства *Micrococcaceae*, выделенные из экотопов с экстремальными условиями среды, являются перспективными для дальнейшего их использования в биотехнологических целях.

Ключевые слова: *Micrococcaceae*; идентификация; ген 16S рРНК; засоление; загрязненные экотопы.

O. V. Yastrebova^a, E. G. Plotnikova^{a,b}

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

PHILOGENETIC DIVERSITY OF BACTERIA OF THE FAMILY *MICROCOCCACEAE* ISOLATED FROM BIOTOPES WITH DIFFERENT ANTHROPOGENIC IMPACT

The data on the taxonomy and distribution of bacteria of the family *Micrococcaceae* isolated from ecosystems with different degrees of anthropogenic impact (Perm Territory: Perm, Berezniki, Solikamsk, Osa) are analyzed. The phylogenetic diversity and wide distribution of the family *Micrococcaceae* representatives in various biotopes of the Verkhnekamskoe salt deposit mining area are shown. A variety of species of the *Micrococcaceae* family bacteria was revealed in the soil and rhizosphere of plants growing near salt dumps. Based on the analysis of the 16S rRNA gene, the studied strains of the family *Micrococcaceae* were assigned to seven genera: *Arthrobacter*, *Pseudoarthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Nesterenkonia*, *Rothia*. The studied cultivated bacteria of the family *Micrococcaceae*, isolated from ecotopes with extreme environmental conditions, are promising for their further use for biotechnological purposes.

Key words: *Micrococcaceae*; identification; 16S rRNA gene; salinization; polluted ecotopes.

Введение

Micrococcaceae – семейство порядка *Actinomycetales*, включающее роды грамположительных, облигатно и факультативно аэробных бактерий, имеющих широкое распространение в почвенных и водных экосистемах. Типовым для семейства является род *Micrococcus*, впервые описанный Cohn F. в 1872 г. Семейство *Micrococcaceae*, предложенное E. Pribram [1929], было в дальнейшем изменено E. Stackebrandt с коллегами

[1997] на основе последовательностей гена 16S рРНК. Помимо типового рода *Micrococcus*, в семейство были включены роды *Arthrobacter* [Conn, Dimmick, 1947], *Kocuria* [Koch, Schumann, Stackebrandt, 1995], *Nesterenkonia* [Stackebrandt et al., 1995], *Renibacterium* [Sanders, Fryer, 1980], *Rothia* [Georg, Brown, 1967], *Stomatococcus* [Bergan, Kocur, 1982], *Citricoccus* [Altenburger et al., 2002], *Acaricomus* [Pukall et al., 2006], *Zhihengliuella* [Zhang et al., 2007], *Yaniella* [Li, Zhi, Euzéby, 2008], *Sinomonas* [Zhou et al., 2009], *Auri-*

tidibacter [Yassin et al., 2011] и *Enteractinococcus* [Cao et al., 2012]. В 2016 г. виды рода *Arthrobacter* были реклассифицированы в отдельные 5 родов семейства: *Paenarthrobacter*, *Pseudoarthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Paeniglutamicibacter*, *Pseudoglutamicibacter* [Busse, 2016].

Представители семейства *Micrococcaceae* встречаются в морских экосистемах, в тканях растений, на поверхности кожи млекопитающих, а также являются типичными обитателями почвенных экосистем. Бактерии данного семейства присутствуют как в загрязненных, так и в неподверженных антропогенному воздействию почвах, где представляют значимую часть культивируемых микроорганизмов. Среди представителей семейства *Micrococcaceae* описаны деструкторы устойчивых, токсичных органических соединений, в том числе полициклических ароматических углеводородов и фталатов [Hu, Yang, Wang, 2015; Vandera et al., 2015]. В семействе *Micrococcaceae* обнаружены галофильные виды, принадлежащие к родам *Nesterenkonia* и *Kocuria*, имеющие оптимум роста в средах с повышенным содержанием соли, а также галотолерантные бактерии рода *Arthrobacter* [Kushner, 1978; Hamedi, Mohammadipannah, Vento-

sa, 2013].

Цель работы – филогенетическая характеристика бактерий семейства *Micrococcaceae*, выделенных из разных экотопов Пермского края.

Материалы и методы исследования

Из рабочей коллекции микроорганизмов Лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН отобран 41 штамм бактерий, идентифицированных ранее как представители семейства *Micrococcaceae*. Исследуемые штаммы были выделены из различающихся по физико-химическим условиям среды экотопов: образцов калийных солей (каменная соль, карналлит) из Верхнекамского месторождения калийно-магневых солей (ВКМС); техногенно-минеральных образований (ТМО); почв, грунтов и донных отложений, загрязненных отходами химических и соледобывающих производств (г. Березники, Соликамск, Пермский край), из почвы сельскохозяйственного использования (г. Оса, Пермский край), активного ила очистных сооружений г. Перми (табл. 1).

Таблица 1

Штаммы и источники выделения бактерий сем. *Micrococcaceae*

Источник выделения	Штамм
Калийные соли (ВКМС)	
Каменная соль (глубина 239.7–239.8 м)	38-1
Карналлит (глубина 254.2–254.4 м)	43-1
Каменная соль (глубина 372.2–372.4 м)	69-6
	72-1
Каменная соль (глубина 411.5–411.6 м)	72-2
	72-4
Глина (мергель, глубина 326.9–327.0 м)	YKS63
Соледобывающие предприятия (г. Березники)	
ТМО, шламохранилище (глубина 0.5 м)	BO19
ТМО, шламохранилища (глубина 0.2 м)	BO37
ТМО2, шламохранилище (глубина 0.2 м)	BO25
ТМО2, шламохранилище (глубина 0.4 м)	BO34-1
ТМО2, шламохранилище (глубина 0.3 м)	BO21
Почва на расстоянии 500 м от солеотвала	B1
Почва на расстоянии 5 м от солеотвала	SN17 (ВКМ Ac-2065)
	SMB11 (ВКМ Ac-2552)
Почва на расстоянии 500 м от солеотвала	SMB145 (ВКМ Ac-2551)
	SF27 (ВКМ Ac-2063)
Донные отложения р. Зырянка, вблизи солеотвала	DF14 (ВКМ Ac-2064)
Почва/грунт на расстоянии 3–10 м от солеотвала	B901 ВКМ Ac-2548
	B904 (ВКМ Ac-2549)
	B905 (ВКМ Ac-2550)
Донные отложения промышленных стоков, «Промканал»	PD13
Ризосферная почва бескильницы расставленной (<i>Puccinellia distans</i>), около солеотвала	PB8-1

Окончание табл. 1

Источник выделения	Штамм
Соледобывающие предприятия (г. Соликамск)	
Ризосферная почва бескильницы расставленной (<i>Puccinellia distans</i>), 4 м от рассолоборника, около солеотвала	BR3-22(1)
	BR3-22(2)
	BR4-2
Ризосферная почва ежи сборной (<i>Dactylis glomerata</i>), около солеотвала (загрязнение дизельным топливом)	NDT16
	NDT18
	EDT13
Ризосферная почва мятлика лугового (<i>Poa pratensis</i>), 5–10 м от солеотвала	M56-102
	104
	ML 17
	M87-1
	M46-10
	M45-1N
Ризосферная почва мятлика лугового (<i>Poa pratensis</i>), 20 м от солеотвала	72
	M55-2N
	M55-5N
ООПТ «Осинская лесная дача» (г. Оса)	
Почва	WD25
Биологические очистные сооружения (г. Пермь)	
Активный ил	SA7
	SA14

Для уточнения таксономического положения отобранных штаммов были проведены амплификация, секвенирование и филогенетический анализ гена 16S рРНК. Чистые культуры бактерий выращивали на агаризованной богатой среде Раймонда [Raymond, 1961] с добавлением 5 г/л триптона и 2.5 г/л дрожжевого экстракта в качестве ростовых субстратов.

Выделение ДНК из биомассы колоний, выросших на агаризованной среде, осуществляли методом щелочного лизиса. Единичная колония культуры помещалась в пробирку «эппендорф», содержащую 100 мкл 0.05N NaOH. Смесь инкубировали при температуре 95°C 15 мин., затем охлаждали в течение 15 мин. при температуре 20°C и центрифугировали при 12 000 об/мин 2 мин. Для проведения амплификации генов 16S рРНК отбирали 1 мкл супернатанта лизата.

Амплификацию гена 16S рРНК проводили с использованием бактериальных праймеров 27F (5'-AGAGTTTGATC(A/C)TGGCTCAG-3') и 1492R (5'-ACGG(C/T)TACSTTGTACGACTT-3') на приборе My Cycler "Bio-Rad Laboratories" (США) согласно описанию [Weisburg et al., 1991]. Определение нуклеотидных последовательностей проводили с применением набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit v. 3.1 на автоматическом секвенаторе Genetic Analyser 3500XL "Applied Biosystems" (США) согласно рекомендациям производителя.

Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей 16S рДНК осуществляли с использованием программ CLUSTAL W (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw>), Sequence Scanner v

2.0. Поиск гомологичных последовательностей осуществляли при использовании баз данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и EzTaxon (<http://www.eztaxon.org>). Филогенетическое дерево строили с помощью программы MEGA7 с использованием метода «neighbor joining» [Kumar, 2016].

Результаты и их обсуждение

Штаммы бактерий, изолированные из различных экотопов Пермского края (табл. 1), были идентифицированы на основании анализа гена 16S рРНК, как представители класса *Actinobacteria*, порядка *Micrococcales*, семейства *Micrococaceae*. Исследуемые штаммы были отнесены к родам: *Arthrobacter*, *Pseudoarthrobacter*, *Glutamicibacter*, *Micrococcus*, *Kocuria*, *Nesterenkonia*, *Rothia*.

Бактерии рода *Arthrobacter*

Девять штаммов бактерий рода *Arthrobacter* были изолированы из образцов почвы и донных отложений водоемов, отобранных в районе разработок ВКМС (табл. 1, 2). Восемь штаммов были близкородственны виду *A. crystallopoietes* (сходство с типовым штаммом вида по генам 16S рРНК составляло 99.7–99.89%) (табл. 2).

Штамм M56-102 наиболее близок виду *A. echini* (сходство по генам 16S рРНК – 98.05%) (табл. 2).

На дендрограмме, показывающей филогенетические отношения исследуемых бактерий родов *Arthrobacter*, *Glutamicibacter* и *Pseudoarthrobacter*, показано, что данные штаммы разделяются на четыре кластера, имеющих отдельные ветви. Восемь штаммов

рода *Arthrobacter* группируются с типовым штаммом вида *A. crystallopoietes*, а штамм M56-102 – с типовым штаммом вида *A. echini*, (рис. 1).

Таблица 2

Результаты филогенетического анализа штаммов рода *Arthrobacter*

Штамм	Типовой штамм ближайшего родственного вида, номер в базе данных GenBank	Количество сравниваемых нуклеотидов	Сходство генов 16S рРНК, %
B1	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> DSM 20117 ^T (X80738)	512	99.61
SMB11 B901 B904 B905 SMB145	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> DSM 20117 ^T (X80738)	1400	99.70
SF27	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> DSM 20117 ^T (X80738)	1400	99.85
DF14	<i>Arthrobacter crystallopoietes</i> DSM 20117 ^T (X80738)	940	99.89
M56-102	<i>Arthrobacter echini</i> AM23 ^T (NR 148833)	871	99.00

Ранее было установлено, что выделенные штаммы *Arthrobacter* spp. обладают широкой субстратной специфичностью и способны к росту на моно- и полиароматических углеводородах, а также фталатах при культивировании в присутствии 3%-ного NaCl. Все штаммы использовали орто-фталат (орто-ФК) и дибутилфталат (ДБФ), протокатеховую кислоту, а также нафталин в качестве единственного источника углерода и энергии; два штамма (SF27 и DF14) растут также на фенантрене [Плотникова и др., 2011; Гагарских, Корсакова, 2014].

Бактерии рода *Pseudoarthrobacter*

Четыре штамма, изолированных из шламохранилища соледобывающего предприятия (штаммы BO21, BO19, BO34-1) и из донных отложений промышленных стоков г. Березники (штамм PD13), ранее были идентифицированы как представители рода *Arthrobacter*, однако согласно новой классификации, основанной на данных хемотаксономических характеристик и филогенетическом анализе [Busse, 2016], были отнесены к новому роду *Pseudoarthrobacter* (табл. 3).

Таблица 3

Результаты филогенетического анализа штаммов рода *Pseudoarthrobacter*

Штамм	Типовой штамм ближайшего родственного вида и номер в базе данных GenBank	Количество сравниваемых нуклеотидов	Сходство генов 16S рРНК, %
PD13	<i>Pseudoarthrobacter siccitolerans</i> 4J27 (NR108849)	850	99,03
BO21	<i>Pseudoarthrobacter oxydans</i> DSM 20119 ^T	1388	99,20
BO19	<i>Pseudoarthrobacter oxydans</i> DSM 20119 ^T (X83408)	1233	100
BO34-1	<i>Pseudoarthrobacter oxydans</i> DSM 20119 ^T (X83408)	1401	100

Штаммы BO21, BO19 BO34-1 были близкородственны штамму *P. oxydans* DSM 20119^T (сходство по гену 16S рРНК 99,20–100%), штамм PD13 показал сходство на уровне 99,03% с типовым штаммом вида *P. siccitolerans*. Филогенетический анализ, основанный на сравнении нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, показал, что исследуемые бактерии рода *Pseudoarthrobacter* находятся в одном кластере со штаммами видов *P. oxydans*, *P. phenantrenivorans* и *P. siccitolerans* (рис. 1).

Как было показано ранее, выделенные штаммы рода *Pseudoarthrobacter* способны к утилизации ароматических субстратов, в частности орто-ФК, ДБФ, нафталина, салицилата, бензоата [Корсакова, Пьянкова, Плотникова, 2013; Гагарских, Корсакова, 2014; Гагарских, Ястребова, 2017].

Бактерии рода *Glutamicibacter*

Девять штаммов, выделенных из образцов почв района солеразработок: почвы вблизи солеотвала

(штаммы SN17, PB8-1, NDT16, NDT18, EDT13), шламохранилища (штамм BO25), рассолосборника (штаммы BR3-22(1), BR3-22(2), BR4-2), были ранее отнесены к роду *Arthrobacter* [Плотникова и др. 2011; Гагарских, Корсакова 2014]. Однако на основании новой классификации, предложенной Busse [Busse, 2016], штаммы были реклассифицированы как представители рода *Glutamicibacter*.

Штаммы SN17 и PB8-1 показали наибольшее сходство с типовым штаммом вида *G. arilaitensis* (100%-ное сходство по гену 16S рРНК), штаммы BO25, BR4-2, NDT16, NDT18 и EDT13 близкородственны *G. nicotianae* DSM 20123^T (сходство - 98,85–99,25%), штаммы BR3-22(1) и BR3-22(1) наиболее близки *G. halophytocola* KLBMP^T (сходство 99,00 -99,41%) (табл. 4). В то же время, на дендрограмме (рис. 1), показывающей филогенетические отношения исследуемых бактерий (ген 16S рРНК), видно, что штаммы BR3-22(1), BR3-22(2), EDT13, NDT16, NDT18, BR4-2, BO25 рас-

полагаются на одной ветви (составляют один кластер) со штаммом вида *G. halophytocola*. Штаммы

PB8-1, SN17 хорошо кластеризуются с типовым штаммом вида *G. arilaitensis* (рис. 1).

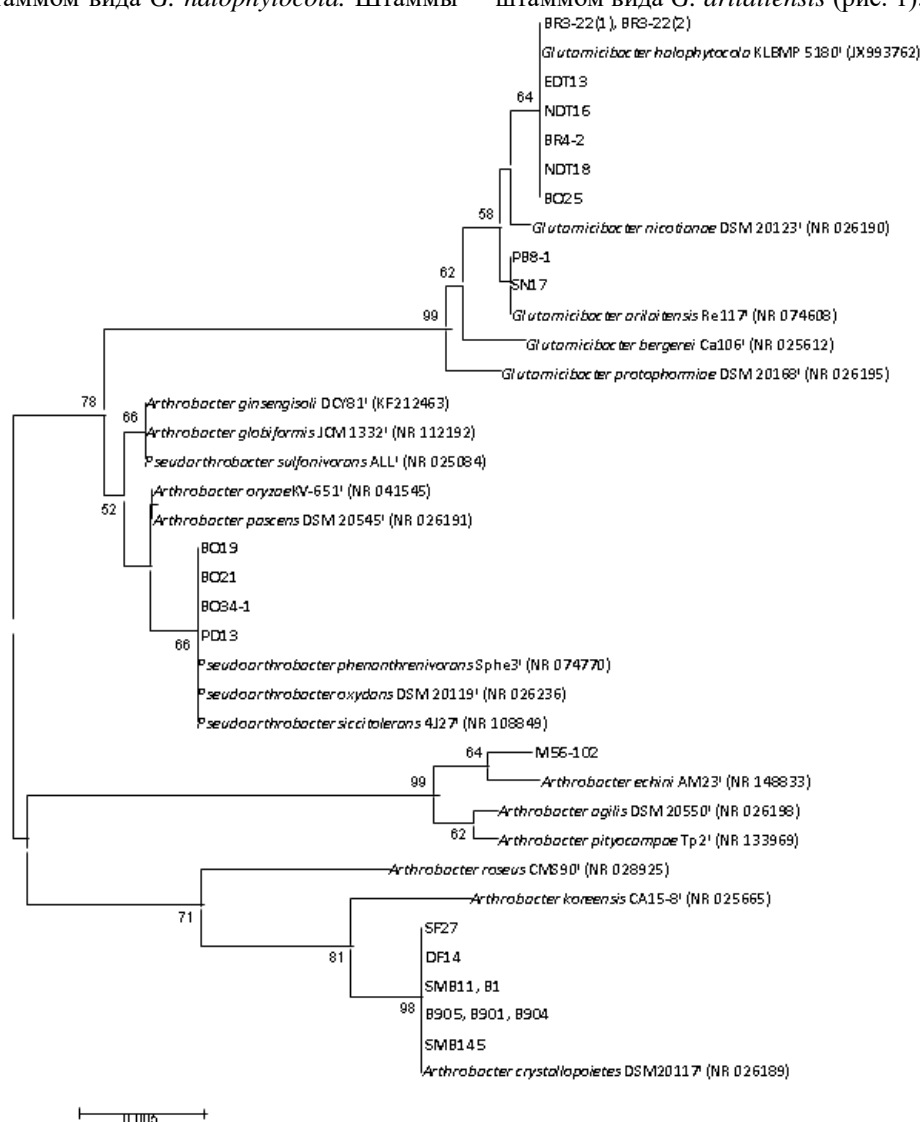


Рис. 1. Дендрограмма, отображающая филогенетическое положение штаммов родов *Arthrobacter*, *Pseudoarthrobacter* и *Glutamicibacter*

Таблица 4

Результаты филогенетического анализа штаммов рода *Glutamicibacter*

Штамм	Типовой штамм ближайшего родственного вида и номер в базе данных GenBank	Количество сравниваемых нуклеотидов	Сходство генов 16S рПНК, %
SN17	<i>Glutamicibacter arilaitensis</i> Re117 ^T (NR_074608)	823	100
PB8-1		856	
NDT16	<i>Glutamicibacter nicotianae</i> DSM 20123 ^T (NR_026190)	873	98.85
NDT18		916	
BR4-2	<i>Glutamicibacter nicotianae</i> DSM 20123 ^T (NR_026190)	847	99.00
BO25	<i>Glutamicibacter nicotianae</i> DSM20123 ^T (NR_026190)	823	99.10
EDT13	<i>Glutamicibacter nicotianae</i> DSM 20123 ^T (NR_026190)	1340	99.25
BR3-22(1)	<i>Glutamicibacter halophytocola</i> KLBMP ^T (JX993762)	850	99.00
BR3-22(2)	<i>Glutamicibacter halophytocola</i> KLBMP ^T (JX993762)	848	99.41

Исследуемые штаммы *Glutamicibacter* spp., как было установлено ранее, способны к деструкции фталатов (*орто*-ФК, ДБФ), бензоата, а штаммы SN17,

BO25 – к разложению нафталина и салицилата [Плотникова и др., 2011; Корсакова, Пьянкова, Плотникова, 2013; Гагарских, Корсакова, 2014].

Бактерии рода *Micrococcus*

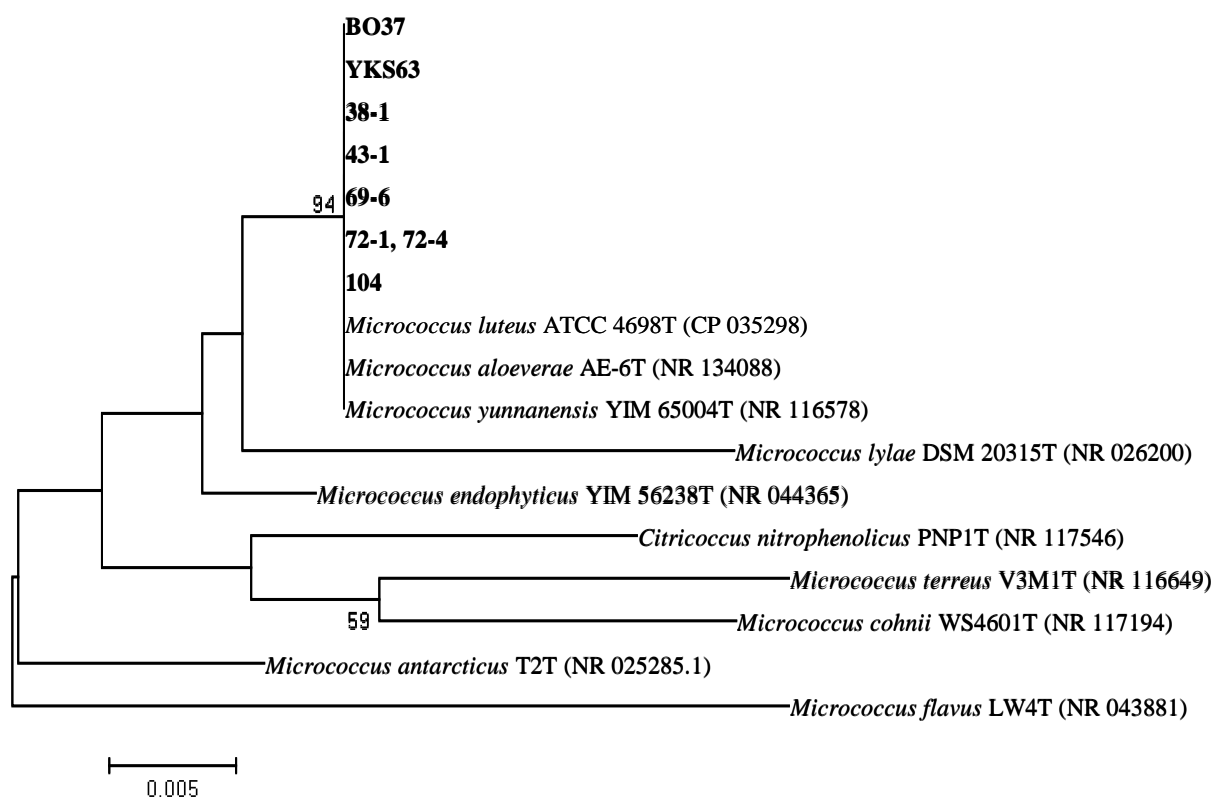
Восемь штаммов бактерий рода *Micrococcus* выделены из разных биотопов района солеразработок: шесть штаммов – из образцов калийных солей, отобранных с глубины 254.2–411.6 м; штамм

ВО37 – из образца ТМО шламохранилища, а штамм 104 – из ризосферной почвы мятлика лугового (табл. 1). Все штаммы, согласно анализу генов 16S рРНК, близкородственны *Micrococcus luteus* ATCC 4698^T на уровне 99.13–100% (табл. 5, рис. 2).

Таблица 5

Результаты филогенетического анализа штаммов рода *Micrococcus*

Штамм	Типовой штамм ближайшего родственного вида и номер в базе данных GenBank	Количество сравниваемых нуклеотидов	Сходство генов 16S рРНК, %
69-6	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665 ^T (CP001628)	814	99.13
38-1	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665 ^T (CP001628)	1383	99.57
43-1	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665 ^T (CP001628)	1237	99.59
YKS63	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665 ^T (CP001628)	752	99.73
72-1	<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 2665 ^T (CP001628)	739	100
72-4		784	
ВО37		500	
104		886	

Рис. 2. Дендрогрмма, отображающая филогенетическое положение штаммов рода *Micrococcus*

Установлено, что все исследуемые штаммы рода *Micrococcus* способны к утилизации бензоата, а штаммы YKS63, 43-1 и 72-1 растут также на орто-ФК, но не способны к деградации полиароматических углеводов [неопубликованные данные].

Бактерии рода *Kocuria*

Штаммы рода *Kocuria* были выделены из ризосферы мятлика лугового, произрастающего на за-

солёной почве (5 штаммов), один штамм – из глубинной породы каменной соли и один штамм – из почвы агроэкосистемы (табл. 1). Выделенные штаммы близкородственны (по гену 16S рРНК) с типовыми штаммами трех видов рода *Kocuria*: *K. arsenatis*, *K. rosea*, *K. polaris* (табл. 6, рис. 3).

Филогенетический анализ, основанный на сравнении нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, показал, что исследуемые бактерии рода *Kocuria* разделяются на 3 кластера: штамм ML17 находится в одном кластере с видами *K. ar-*

senatis и *K. rhizophila*, штамм M45-1N – на одной ветви со штаммом *K. polaris*, а штаммы M46-10, 72 и 72-2 – в кластере с видом *K. rosea* (рис. 3). Штамм M87-1 представлен на отдельной ветви,

имеет небольшой процент сходства (98.94%) с типовым штаммом вида *Kocuria arsenatis*, в дальнейшем может представлять интерес для описания нового таксона (вида) рода *Kocuria*.

Таблица 6

Результаты филогенетического анализа штаммов рода *Kocuria*

Штамм	Типовой штамм ближайшего родственного вида и номер в базе данных GenBank	Количество сравниваемых нуклеотидов	Сходство генов 16S рРНК, %
WD25	<i>Kocuria arsenatis</i> CM1E1 ^T (KM874399)	918	99,78
M87-1	<i>Kocuria arsenatis</i> CM1E1 ^T (KM874399)	941	98,94
ML17	<i>Kocuria arsenatis</i> CM1E1 ^T (KM874399)	895	100
M45-1N	<i>Kocuria polaris</i> CMS 76or ^T (AJ278868)	743	99,70
M46-10	<i>Kocuria rosea</i> DSM 20447 ^T (X87756)	892	99,66
72-2	<i>Kocuria rosea</i> DSM 20447 ^T (X87756)	721	99,77
72	<i>Kocuria rosea</i> DSM 20447 ^T (X87756)	860	100

Как показано ранее, штаммы *Kocuria* sp. WD25 и ML17 обладают широкой субстратной специфичностью и способны к деструкции ряда моно- и полиароматических углеводов: фенантрена, нафталина, бензоата, а также *орто*-ФК и ДБФ [Юдин, Ястребова, Плотникова, 2019].

Бактерии рода *Nesterenkonia*

Два штамма M55-5N и M55-2N рода *Nesterenkonia* были выделены из ризосферы мятлика лугового, произрастающего на засоленной почве (табл. 1). На основании анализа гена 16S рРНК штаммы отнесены к виду *N. halotolerans* со сходством 100% с типовым штаммом вида. На дендрограмме данные штаммы находятся в одном кластере с типовым штаммом вида *N. halotolerans* (рис. 4).

Показано, что исследуемые штаммы рода *Nesterenkonia* не обладают деградативной активностью в отношении моно- и полиароматических углеводов и фталатов [неопубликованные данные].

Бактерии рода *Rothia*

Два штамма рода *Rothia* были выделены из образца активного ила биологических очистных сооружений предприятия ОАО «Сибур-Химпром» (г. Пермь).

Как показал филогенетический анализ, исследуемые штаммы SA7 и SA14 находятся в одном кластере с типовым штаммом вида *R. amarae* (рис. 5). Сходство по генам 16S рРНК составляет 99.88% (штамм SA7) и 100% (штамм SA14).

Установлено, что выделенные штаммы *Rothia* sp. SA7 и SA14 растут на бензоате и *орто*-ФК, но не способны к росту на сложных эфирах

фталевой кислоты [Ястребова, Юдин, Плотникова, 2019].

Заключение

В результате проведенной работы были исследованы бактерии семейства *Micrococcaceae* (порядок *Actinomycetales*), выделенные из различных биотопов Пермского края. Показано филогенетическое разнообразие и широкое распространение представителей семейства *Micrococcaceae*: штаммы были выделены из образцов почв и ризосферы растений, образцов шламов, активного ила очистных сооружений, а также соленосной толщи Верхнекамского месторождения (породы карналлита и каменной соли). Наибольшее разнообразие видов бактерий семейства *Micrococcaceae* было выявлено в почве и ризосфере растений, произрастающих вблизи солеотвалов. На основании анализа гена 16S рРНК исследуемые штаммы семейства *Micrococcaceae* были отнесены к семи родам: *Arthrobacter* (9 штаммов), *Pseudoarthrobacter* (4 штамма), *Glutamicibacter* (9 штаммов), *Micrococcus* (8 штаммов), *Kocuria* (7 штаммов), *Nesterenkonia* (2 штамма), *Rothia* (2 штамма). Среди исследованных бактерий сем. *Micrococcaceae* наибольшей субстратной специфичностью по отношению к моно- и полиароматическим углеводам и фталатам обладали штаммы родов *Arthrobacter* и *Glutamicibacter*.

Полученные данные расширяют наши представления о бактериях семейства *Micrococcaceae* – представителях микрофлоры экосистем с повышенным засолением среды и высокой промышленной нагрузкой. Штаммы бактерий данного семейства являются перспективными для разработки на их основе биотехнологий очистки загрязненных почв и промышленных стоков.

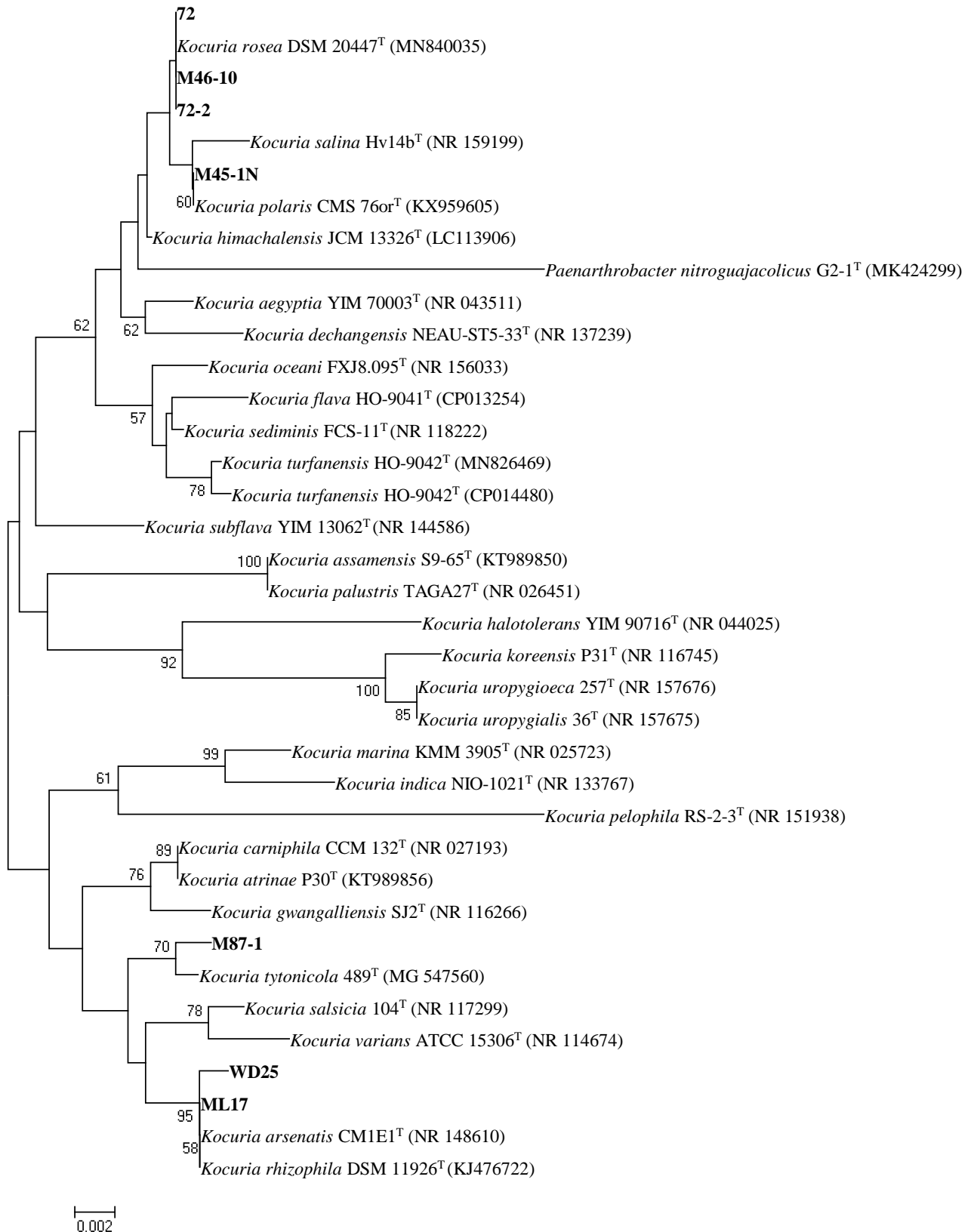


Рис. 3. Дендрограмма, отображающая филогенетическое положение штаммов рода *Kocuria*

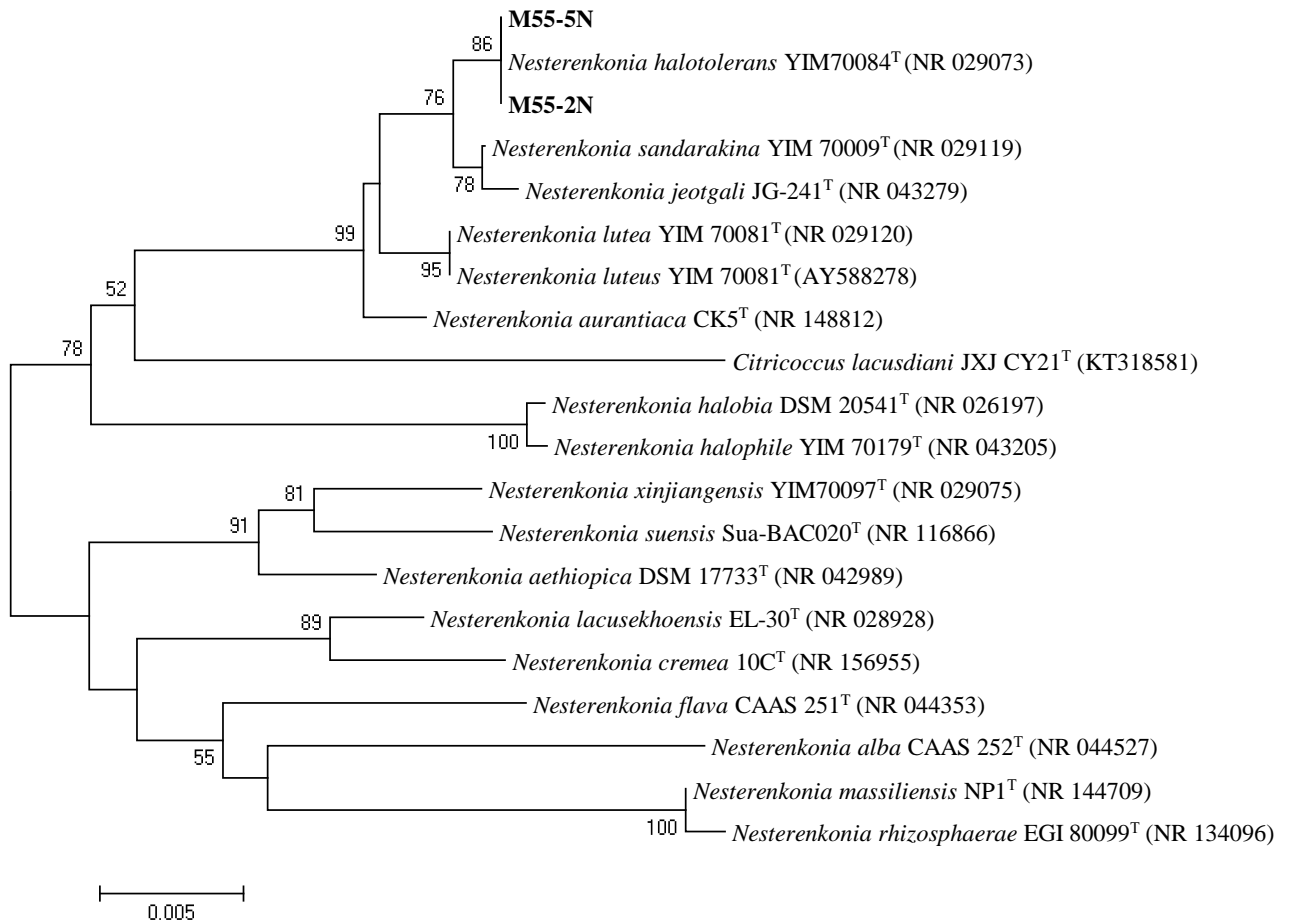


Рис. 4. Дендрограмма, отображающая филогенетическое положение штаммов рода *Nesterenkonia*

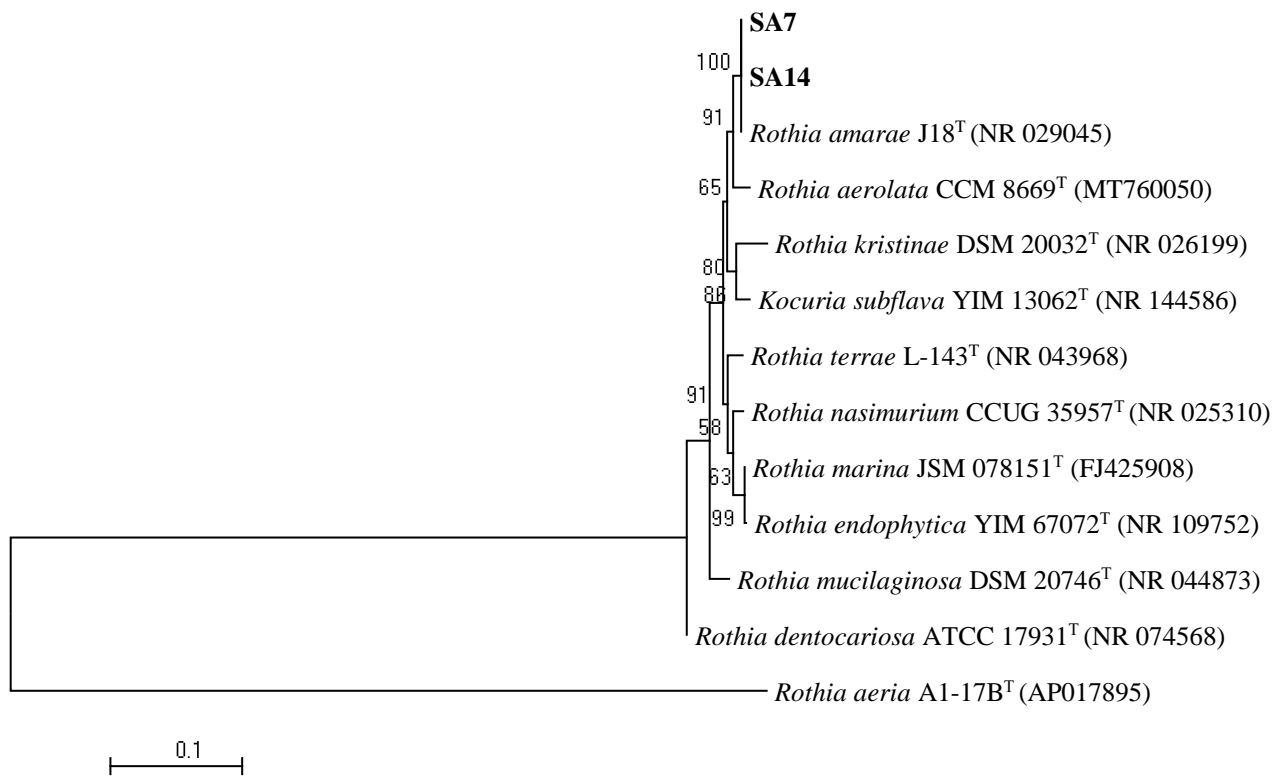


Рис. 5. Дендрограмма, отображающая филогенетическое положение штаммов рода *Rothia*

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер госрегистрации темы: АААА-А19-119112290008-4, и при финансовой поддержке РФФИ и Министерства образования и науки Пермского края в рамках научного проекта 19-44-590011 p_a.

Библиографический список

- Гагарских О.Н., Корсакова Е.С. Галотолерантные бактерии рода *Arthrobacter*, выделенные из загрязненных почв и отходов соледобывающих предприятий Пермского края // Симбиоз-Россия 2014: материалы VII Всероссийского Конгресса молодых биологов. Екатеринбург, 2014. С. 105–107.
- Гагарских О.Н., Ястребова О.В. Характеристика галотолерантного штамма-деструктора фталатов *Arthrobacter* sp. PD13-12 // Симбиоз – 2017: X Всерос. конгресс молодых ученых-биологов: сб. тез. Казань, 2017. С. 75–76.
- Корсакова Е.С., Пьянкова А.А., Плотникова Е.Г. Бактерии-деструкторы стойких органических загрязнителей – эфиров фталевой кислоты, как основа для создания новых экобиотехнологий // Известия Самарского научного центра РАН. 2013. Т. 15, № 3 (5). С. 1633–1636.
- Плотникова Е.Г. и др. Галотолерантные бактерии рода *Arthrobacter* – деструкторы полициклических ароматических углеводов // Экология. 2011. № 6. С. 459–466.
- Юдин Д.С., Ястребова О.В., Плотникова Е.Г. Характеристика бактерий рода *Kocuria* – активных деструкторов фталатов // VI Международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов: сб. тез. Новосибирск, 2019. С. 236–239.
- Ястребова О.В., Юдин Д.С., Плотникова Е.Г. Выделение и характеристика смешанных культур и бактерий-деструкторов фталатов // Утилизация и рециклинг отходов производства и потребления: инновационные подходы и технологии: I Всерос. науч.-практ. конф. Киров, 2019. С. 160–162.
- Altenburger P. et al. *Citricoccus muralis* gen. nov., sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a medieval wall painting // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2002. Vol. 52. P. 2095–2100.
- Bergan T., Kocur M. *Stomatococcus mucilaginosus* gen. nov., sp. nov., ep. rev., a member of the family *Micrococcaceae* // International journal of systematic bacteriology. 1982. Vol. 32. P. 374–377.
- Busse H.J. Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter* sensu lato, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel genera *Glutamicibacter* gen. nov., *Paeniglutamicibacter* gen. nov., *Pseudoglutamicibacter* gen. nov., *Paenarthrobacter* gen. nov. and *Pseudarthrobacter* gen. nov., and emended description of *Arthrobacter roseus* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2016. Vol. 66. P. 9–37.
- Cao Y.R. et al. *Enteractinococcus coprophilus* gen. nov., sp. nov., of the family *Micrococcaceae*, isolated from *Panthera tigris amoyensis* faeces, and transfer of *aniella fodinae* Dhanjal et al. 2011 to the genus *Enteractinococcus* as *Enteractinococcus fodinae* comb. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 2012. Vol. 62. P. 2710–2716.
- Cohn F. Untersuchungen über Bakterien // Beiträge zur Biologie der Pflanzen. 1872. Vol. 1 (Heft II). P. 127–224.
- Conn H.J., Dimmick I. Soil bacteria similar in morphology to *Mycobacterium* and *Corynebacterium* // Journal of Bacteriology. 1947. Vol. 54. P. 291–303.
- Hamedi J., Mohammadipanah F., Ventosa A. Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinomycetes // Extremophiles. 2013. Vol. 17. P. 1–13.
- Hu J., Yang Q., Wang J.L. Biodegradation of di-n-butyl phthalate in sequencing batch reactor bioaugmented with *Micrococcus* sp. and the bacterial community analysis // International Journal of Environmental Science and Technology. 2015. Vol. 12. P. 2819–2828.
- Georg L.K., Brown J.M. *Rothia*, gen. nov. an anaerobic genus of the family *Actinomycetaceae* // International journal of systematic bacteriology. 1967. Vol. 17. P. 79–88.
- Koch C., Schumann P., Stackebrandt E. Reclassification of *Micrococcus agilis* (Ali-Cohen 1889) to the genus *Arthrobacter* as *Arthrobacter agilis* comb. nov., and emendation of the genus *Arthrobacter* // International journal of systematic bacteriology. 1995. Vol. 45. P. 837–839.
- Kumar S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // Molecular Biology and Evolution. 2016. Vol. 33. P. 1870–1874.
- Kushner D. Life in high salt and solute concentrations // Microbial life in extreme environments. 1978. P. 317–368.
- Li W.J., Zhi X.Y., Euzéby J.P. Proposal of *Yaniellaceae* fam. nov., *Yaniella* gen. nov. and *Sinobaca* gen. nov. as replacements for the illegitimate prokaryotic names *Yaniaceae* // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.

2008. Vol. 58. P. 525–527.
- Pribram E. A contribution to the classification of microorganisms // *Journal of Bacteriology*. 1929. Vol. 18. P. 361–394.
- Pukall R. et al. *Acaricomes phytoseiuli* gen. nov., sp. nov., isolated from the predatory mite *Phytoseiulus persimilis* // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2006. Vol. 56. P. 465–469.
- Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinic hydrocarbons // *Developments in Industrial Microbiology*. 1961. Vol. 2, № 1. P. 23–32.
- Sanders J.E., Fryer J.L. *Renibacterium salmoninarum* gen. nov., sp. nov., the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fishes // *International journal of systematic bacteriology*. 1980. Vol. 30. P. 496–502.
- Stackebrandt E. et al. Taxonomic dissection of the genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Derma-coccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. // *International journal of systematic bacteriology*. 1995. Vol. 45. P. 682–692.
- Stackebrandt E., Rainey F.A., Ward-Rainey N.L. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. // *International journal of systematic bacteriology*. 1997. Vol. 47. P. 479–491.
- Vandera E. et al. Comparative proteomic analysis of *Arthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3 on phenanthrene, phthalate and glucose // *Journal of Proteomics*. 2015. Vol. 113. P. 73–89.
- Weisburg W.G. et al. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study // *Journal of Bacteriology*. 1991. Vol. 173. P. 697–703.
- Yassin A.F. et al. *Auritidibacter ignavus* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium of the family *Micrococcaceae* isolated from ear swab of a man with otitis externa, transfer of the family *Yaniellaceae* Li et al. 2008 to the family *Micrococcaceae* and emended description of the suborder *Micrococ-cineae* // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2011. Vol. 61. P. 223–230.
- Zhang Y.Q. et al. *Zhihengliuella halotolerans* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family *Micrococcaceae* // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2007. Vol. 57. P. 1018–1023.
- Zhou Y. et al. Proposal of *Sinomonas flava* gen. nov., sp. nov., and description of *Sinomonas atrocyanea* comb. nov. to accommodate *Arthrobacter atrocyaneus* // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2009. Vol. 59. P. 259–263.
- Lubitz W., Busse H.-J. *Citricoccus muralis* gen. nov., sp. nov., a novel actinobacterium isolated from a medieval wall painting. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 52 (2002): pp. 2095–2100.
- Bergan T., Kocur M. *Stomatococcus mucilaginosus* gen. nov., sp. nov., ep. rev., a member of the family *Micrococcaceae* *International journal of systematic bacteriology*. V. 32 (1982): pp. 374–377.
- Busse H.J. Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter sensulato*, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel genera *Glutamicibacter* gen. nov., *Paeniglutamicibacter* gen. nov., *Pseudoglutamicibacter* gen. nov., *Paenarthrobacter* gen. nov. and *Pseudarthrobacter* gen. nov., and emended description of *Arthrobacter roseus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 66 (2016): pp. 9–37.
- Gagarskikh O.N., Korsakova Ye.S. [Halotolerant bacteria of the genus *Arthrobacter*, isolated from contaminated soils and wastes of salt mining enterprises of the Perm Region]. *Simbioz-Rossija 2014. Materialy VII Vserossijskogo Kongressa molodych biologov* [Symbiosis-Russia 2014. Materials of the VII All-Russian Congress of Young Biologists]. Ekaterinburg, 2014, pp. 105–107. (In Russ.).
- Gagarskikh O.N., Yastrebova O.V. [Characteristics of the halotolerant phthalate destructor strain *Arthrobacter* sp. PD13-12]. *Simbioz – 2017. X Vserossijskiy kongress molodych uchenych-biologov* [Symbiosis – 2017. X All-Russian Congress of Young Biological Scientists]. Kazan, 2017, pp. 75–76. (In Russ.).
- Cao Y.R., Jiang Y., Jin R.X., Han L., He W.X., Li Y.L., Huang X.S., Xue Q.H. *Enteractinococcus coprophilus* gen. nov., sp. nov., of the family *Micrococcaceae*, isolated from *Panthera tigris amoyensis* faeces, and transfer of *aniella fodinae* Dhanjal et al. 2011 to the genus *Enteractinococcus* as *Enteractinococcus fodinae* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 62 (2012): pp. 2710–2716.
- Cohn F. Untersuchungen über Bakterien Bertr. *Biol. Pflanz*. V. 1 (Heft II) (1872): pp. 127–224.
- Conn H.J., Dimmick I. Soil bacteria similar in morphology to *Mycobacterium* and *Corynebacterium*. *Journal of Bacteriology*. V. 54 (1947): pp. 291–303.
- Hamed J., Mohammadipanah F., Ventosa A. Systematic and biotechnological aspects of halophilic and halotolerant actinomycetes. *Extremophiles*. Vol. 17 (2013): pp 1–13.
- Hu J., Yang Q., Wang J.L. Biodegradation of di-n-butyl phthalate in sequencing batch reactor bio-

References

Altenburger P., Kämpfer P., Schumann P., Steiner R.,

- augmented with *Micrococcus* sp. and the bacterial community analysis. *International Journal of Environmental Science and Technology*. V. 12 (2015): pp. 2819-2828.
- Georg L.K., Brown J.M. *Rothia*, gen. nov. an anaerobic genus of the family *Actinomycetaceae*. *International journal of systematic bacteriology*. V. 17 (1967): pp. 79-88.
- Koch C., Schumann P., Stackebrandt E. Reclassification of *Micrococcus agilis* (Ali-Cohen 1889) to the genus *Arthrobacter* as *Arthrobacter agilis* comb. nov. and emendation of the genus *Arthrobacter*. *International journal of systematic bacteriology*. V. 45 (1995): pp. 837-839.
- Korsakova E.S., Pyankova A.A., Plotnikova E.G. [Bacteria-destructors of persistent organic pollutants - phthalic acid esters, as a basis for the creation of new ecobiotechnologies]. *Izvestija Samarskogo naučnogo centra RAN*. V. 15, N 3(5) (2013): pp. 1633-1636. (In Russ.).
- Kumar S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution* V. 33 (2016): pp. 1870-1874.
- Kushner D. Life in high salt and solute concentrations In: *Microbial life in extreme environments*. 1978, pp. 317-368.
- Li W.J., Zhi X.Y., Euzéby J.P. Proposal of *Yaniellaceae* fam. nov., *Yaniella* gen. nov. and *Sinobaca* gen. nov. as replacements for the illegitimate prokaryotic names *Yaniaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 58 (2008): pp. 525-527.
- Plotnikova E.G., Yastrebova O.V., Anan'ina L.N., Dorofeeva L.V., Lysanskaya V.Ya., Demakov V.A. [Halotolerant Bacteria of the Genus *Arthrobacter* Degrading Polycyclic Aromatic Hydrocarbons]. *Russian Journal of Ecology*. V. 42, N 6 (2011): pp. 502-509. (In Russ.).
- Pribram E A contribution to the classification of microorganisms. *Journal of Bacteriology*. V. 18 (1929): pp. 361-394.
- Pukall R., Schumann P., Schutte C., Gols R., Dicke M. *Acaricomes phytoseiuli* gen. nov., sp. nov., isolated from the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 56 (2006): pp. 465-469.
- Raymond R.L. Microbial oxidation of n-paraffinhydrocarbons. *Developments in Industrial Microbiology*. V. 2, N 1 (1961): pp. 23-32.
- Sanders J.E., Fryer J.L. *Renibacterium salmoninarum* gen. nov., sp. nov., the causative agent of bacterial kidney disease in salmonid fishes. *International Journal of systematic bacteriology*. V. 30 (1980): pp. 496-502.
- Stackebrandt E., Koch C., Gvozdiak O., Schumann P. Taxonomic dissection of the genus *Micrococcus*: *Kocuria* gen. nov., *Nesterenkonia* gen. nov., *Kytococcus* gen. nov., *Dermacoccus* gen. nov., and *Micrococcus* Cohn 1872 gen. emend. *International Journal of systematic bacteriology*. V. 45 (1995): pp. 682-692.
- Stackebrandt E., Rainey F.A., Ward-Rainey N.L. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *International Journal of systematic bacteriology*. V. 47 (1997): pp. 479-491.
- Vandera E., Samiotaki M., Parapouli M., Panayotou G., Koukkou A.I. Comparative proteomic analysis of *Arthrobacter phenanthrenivorans* Sphe3 on phenanthrene, phthalate and glucose. *Journal of Proteomics*. V. 113 (2015): pp. 73-89.
- Weisburg W.G., Barns S.M., Pelletier D.A., Lane D.J. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *Journal of Bacteriology*. V. 173, N 2 (1991): pp. 697-703.
- Yassin A.F., Hupfer H., Siering C., Klenk H.P., Schumann P. *Auritidibacter ignavus* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium of the family *Micrococcaceae*, isolated from ear swab of a man with otitis externa, transfer of the family *Yaniellaceae* Li et al. 2008 to the family *Micrococcaceae* and emended description of the suborder *Micrococineae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 61 (2011): pp. 223-230.
- Yastrebova O.V., Yudin D.S., Plotnikova E.G. [Isolation and characterization of mixed cultures and phthalate-destroying bacteria]. *Utilizacija i recikling otchodov proizvodstva i potreblenija* [Utilization and recycling of production and consumption waste: innovative approaches and technologies: I all-Russian scientific and practical conference]. Kirov, 2019, pp. 378-385 (In Russ.).
- Yudin D.S., Yastrebova O.V., Plotnikova E.G. [Characteristics of bacteria of the genus *Kosuria* - active destructors of phthalates]. *VI Meždunarodnaja konferencija molodych učenyh: biofizikov, bioteknologov, molekularnyh biologov i virusologov* [VI International conference of young scientists: biophysicists, biotechnologists, molecular biologists and virologists]. Novosibirsk, 2019, pp. 236-239. (In Russ.).
- Zhang Y.Q., Schumann P., Yu L.Y., Liu H.Y., Zhang Y.Q., Xu L.H., Stackebrandt E., Jiang C.L., Li W.J. *Zhihengliuella halotolerans* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family *Micrococcaceae*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 57 (2007): pp. 1018-1023.
- Zhou Y, Wei W, Wang X, Lai R. Proposal of *Sinomonas flava* gen. nov., sp. nov., and description of *Sinomonas atrocyanea* comb. nov. to accommo-

date *Arthrobacter atrocyaneus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. V. 59 (2009): pp. 259-263.

Поступила в редакцию 15.10.2020

Об авторах

Ястребова Ольга Викторовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии
«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиал ПФИЦ УрО РАН
ORCID: 0000-0003-4997-6525
614081, Пермь, ул. Голева, 13; olyastr@mail.ru; (342)2808431

Плотникова Елена Генриховна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии
«Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» - филиал ПФИЦ УрО РАН
профессор кафедры ботаники и генетики растений
ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
ORCID: 0000-0002-0107-0719
614081, Пермь, ул. Голева, 13; peg_el@mail.ru; (342)2808431

Информация для цитирования:

Ястребова О.В., Плотникова Е.Г. Филогенетическое разнообразие бактерий семейства *Micrococcaceae*, выделенных из биотопов с различным антропогенным воздействием // Вестник Пермского университета. Сер. Биология. 2020. Вып. 4. С. 321–333. DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-321-333.

Yastrebova O.V., Plotnikova E.G. [Phylogenetic diversity of bacteria of the family *Micrococcaceae* isolated from biotopes with different anthropogenic impact]. *Vestnik Permskogo universiteta. Biologija*. Iss. 4 (2020): pp. 321-333. (In Russ.). DOI: 10.17072/1994-9952-2020-4-321-333.

About the authors

Yastrebova Olga Victorovna, candidate of biology, researcher of laboratory of molecular microbiology and biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
ORCID: 0000-0003-4997-6525
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; olyastr@mail.ru; (342)2808431

Plotnikova Elena Genrikhovna, doctor of biology, leading researcher of laboratory of molecular microbiology and biotechnology
Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS.
professor of the Department of botany and plant genetics
Perm State University.
ORCID: 0000-0002-0107-0719
13, Golev str., Perm, Russia, 614081; peg_el@mail.ru; (342)2808431

