

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ ПУРПУРНОЙ СЕРНОЙ БАКТЕРИИ *THIOCAPSA* SP. ШТАММ BBS НА
ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА ГЕНОВ 16S рРНК, *cbbL* И *nifH* И ОПИСАНИЕ ЕГО В КАЧЕСТВЕ НОВОГО ВИДА
THIOCAPSA BOGOROVII SP. NOV.

Т.П. Турова¹, О.И. Кеппен², О.Л. Ковалева², Н.В. Слободова³, И.А. Берг², Р.Н. Ивановский²

1 — Ин-т микробиологии им. М.В. Виноградского РАН;

2 — Каф. микробиологии Биологического ф-та

МГУ им. М.В. Ломоносова; 3 — Центр «Биоинженерия» РАН

Бактерии рода *Thiocapsa* относятся к семейству Chromatiaceae, объединяющему пурпурные серные бактерии, откладывающие серу внутри клеток. Первоначально данный род объединял неподвижных бактерий сферической формы, не имеющих газовых вакуолей. Однако, с началом использования молекулярных методов в таксономии, семейство Chromatiaceae подверглось ревизии: часть видов рода *Thiocapsa* была выведена из его состава, тогда как ряд представителей рода *Amoebobacter*, обладающих газовыми вакуолями, напротив, был перенесен в него (Imhoff, Suling, Petri 1998; Guyoneaud *et al.*, 1998).

Описываемый в работе штамм BBS, выделенный из проб ила эстуария Белого моря в районе ББС, и потому получивший такое название, был первоначально отнесен к типовому виду рода *Thiocapsa* – *Th. roseopersicina* (Богоров, 1974). Однако по некоторым фенотипическим признакам, таким как неспособность к ассимиляционной сульфатредукции, потребность в витамине В₁₂, более высокий оптимум солености, а также некоторые различия в спектре используемых органических соединений, этот штамм отличается от типового штамма данного рода

Автотрофная фиксация СО₂ у пурпурных бактерий осуществляется через цикл Кальвина (Tabita, 1995). Наличие ключевого фермента этого цикла, рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилазы / оксигеназы (РБФК), показано для многих представителей Chromatiaceae, в том числе, для типового штамма *Th. roseopersicina* и штамма BBS (Kondratieva *et al.*, 1981; Purohit, McFadden, 1979; Жуков, 1976). У представителей Chromatiaceae РБФК относится к «зеленому» типу (green-like) состоит из восьми больших субъединиц (L₈) и восьми малых — (S₈), кодируемых генами *cbbLS*.

Другой важной особенностью метаболизма является способность к фиксации молекулярного азота (дiazотрофии) (Madigan, 1995). Ключевой для этого процесса ферментный комплекс нитрогеназа состоит из двух субъединиц: FeMo-белка, кодируемого генами *nifD* и *nifK*, и Fe-белка, который кодируется геном *nifH*.

Для уточнения таксономического положения штамма BBS наряду со сравнительным исследованием способности штаммов BBS и *Th. roseopersicina* DSM 217^T к хемолитоавтотрофии, определены генотипические характеристики штамма BBS. В дополнение к данным традиционных методов ДНК-ДНК гибридизации и анализа генов 16S рРНК, был проведен филогенетический анализ функциональных генов — *cbbL* и *nifH*, кодирующих ключевые ферменты автотрофной фиксации СО₂ и фиксации азота, соответственно.

Исследование показало, что штамм BBS, также как и типовой штамм *Th. roseopersicina* DSM 217^T способен расти в хемолитоавтотрофных аэробных условиях за счет функционирования цикла Кальвина. Согласно данным анализа генов 16S рРНК, уровень сходства нуклеотидных последовательностей (98,3%) между штаммом BBS и представителями ранее описанных видов рода *Thiocapsa* (включая типовой штамм *Tc. roseopersicina*) не превышает внутривидовой (98,7–99,0%), что ставит под сомнение принадлежность штамма BBS к виду *Th. roseopersicina*.

Для более точного определения таксономического статуса изучаемого вида были проведены эксперименты по ДНК-ДНК гибридизации. Согласно полученным данным, уровень гибридизации ДНК штамма BBS с ДНК *Th. roseopersicina* и *Th. litoralis* не превышал 37%, т.е. был значительно ниже внутривидового, что согласуется с данными анализа генов 16S рРНК.

В качестве дополнительного критерия для оценки уровня родства исследуемых бактерий был проведен филогенетический анализ функциональных генов (*cbbL* и *nifH*), результаты которого подтверждают данные анализа генов 16S рРНК, свидетельствующие в пользу предположения о принадлежности штаммов BBS и *Th. roseopersicina* DSM 217^T к разным видам.

Таким образом, сравнение фенотипических признаков штамма BBS и других представителей рода *Thiocapsa* в сочетании с молекулярно-генетическими данными дают основание для пересмотра таксономического статуса штамма BBS и выделения его из вида *Th. roseopersicina* в самостоятельный вид рода *Thiocapsa* с названием *Thiocapsa bogorovii* sp. nov., данным в честь советского микробиолога, выделившего штамм BBS.

Описание *Thiocapsa bogorovii* sp. nov. Клетки сферические 1,0–1,5 мкм в диаметре. Размножаются бинарным делением, грамтрицательные. Не имеют жгутиков, но способны

осуществлять неориентированные импульсивные скачки в препаратах «раздавленная капля». В качестве запасных веществ образуют гранулы полифосфатов, поли-β-оксимасляную кислоту и полисахариды. При росте в жидкой среде культура имеет розовый-красный и часто белесорозовый цвет за счет накопления молекулярной серы при окислении восстановленных серных соединений. Фотосинтезирующий аппарат представлен мембранами везикулярного типа. Основными фотосинтезирующими пигментами являются бактериохлорофилл *a* и каротиноид-спироцоксантин. Обладает каталазной и гидрогеназной активностями. Рост возможен при значениях pH от 6,0 до 8,0, но лучший рост наблюдается при pH 7,0–7,5. Рост возможен при концентрации NaCl до 5%, оптимальная концентрация — 1–2%. Фотоавтотрофный рост в качестве доноров электронов поддерживают сульфид, тиосульфат, сера и H₂. Способны к хемолитоавтотрофии при росте в темноте в аэробных условиях, используя тиосульфат в качестве источника серы донора электронов и энергии для фиксации CO₂. Автотрофная фиксация CO₂ осуществляется через цикл Кальвина, кислород не репрессировывает синтез РБФК. Окисление сульфида и тиосульфата идет до сульфатов через образование молекулярной серы, которая откладывается внутри клеток. Урожай клеток при выращивании на свету увеличивается при добавлении к минеральной среде органических соединений: ацетата, пирувата, лактата, глицерина и глюкозы (0,1%). Небольшое увеличение роста дают 2-кетоглутарат, пропионат, фумарат, сукцинат и малат. Другие органические соединения, такие, как формиат, бутират, фруктоза, галактоза, лактоза, сорбоза, арабиноза, рамноза, ксилоза, манноза, мальтоза, сахароза, метанол, этанол, бутанол, пропанол, изопропанол, маннит, сорбит, дульцит не увеличивали урожай клеток, а бензойная кислота, изобутанол, амиловый и изоамиловый спирты угнетали рост. Не способен к ассимиляционной сульфатредукции. Рост возможен только при наличии в среде S⁰, S²⁻, S₂O₃²⁻. Цистеин и метионин не используются как источники серы. В качестве источника азота использует соли аммония, мочевины, пептон, гидролизат казеина, аргинин. Глутаминовая кислота, аланин, гидроксилламин и KNO₃ не поддерживают рост клеток. Способен к фиксации молекулярного азота. Нуждается в витамине B₁₂. Содержание ГЦ в ДНК составляет 66,7 мол. %.

Благодарность. Авторы выражают глубокую признательность к.б.н. А.М. Лысенко за предоставление данных по ДНК-ДНК гибридизации. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 08-04-00005.

Из сборника: Материалы научной конференции, посвященной 70-летию Беломорской биологической станции МГУ: Сборник статей.– М.: Изд. «Гриф и К», 2008.– с. 251-254.