
**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ
СТАТЬИ**

GEMMATA PALUSTRIS SP. NOV., НОВЫЙ ПЛАНКТОМИЦЕТ, ВЫДЕЛЕННЫЙ ИЗ НИЗИННОГО БОЛОТА СЕВЕРА РОССИИ

© 2021 г. А. А. Иванова^а, *, И. С. Куличевская^а

^аИнститут микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр
“Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 119071 Россия

*e-mail: ivanovastasja@gmail.com

Поступила в редакцию 22.04.2021 г.

После доработки 13.05.2021 г.

Принята к публикации 13.05.2021 г.

Планктомицеты являются типичными обитателями северных болотных экосистем. В настоящей работе сообщается о выделении нового планктомицета рода *Gemmata*, штамм G18^T из низинного болота северо-запада России. Этот изолят был представлен одиночными или собранными в небольшие группы сферическими клетками, обладающими подвижностью в экспоненциальной фазе роста. Штамм G18^T являлся хемоорганотрофным, психротолерантным мезофилом с оптимумом роста при pH 7.0 и температуре 15–20°C. В качестве источников углерода и энергии новый планктомицет предпочитал полисахариды пектин, ксилан, лихенан, ксантановую камедь и фитагель. Нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма G18^T обнаруживала 95.7–98.9% сходства по сравнению с отмеченной у пресноводных планктомицетов *Gemmata obscuriglobus* DSM 5831^T и “*Gemmata massiliana*” ПЛ30. Геном штамма G18^T, размером 9.23×10^6 п.о., включал 7631 белок-кодирующих генов и 3 копии оперона рРНК (генов 5S, 16S и 23S рРНК). Содержание G + C в ДНК составляло 65 мол. %. Согласно калькулятору ANI, сходство генома G18^T с ранее описанными представителями рода *Gemmata* составляло 86.0% с “*G. massiliana*” ПЛ30 и 79.7% с *G. obscuriglobus* DSM 5831^T. Ряд различий в фенотипических и генотипических свойствах позволил классифицировать штамм G18^T в качестве нового вида рода *Gemmata* – *Gemmata palustris* sp. nov. с типовым штаммом G18^T (=KCTC 82682 = VKM В-3541^T).

Ключевые слова: филогенетическая группа *Planctomycetes*, семейство *Gemmataceae*, род *Gemmata*, низинные болота

DOI: 10.31857/S0026365621050074

Семейство *Gemmataceae* объединяет почкующиеся аэробные хемоорганотрофные планктомицеты с клетками сферической или овальной формы, которые встречаются одиночно или собраны в розетки и дендрiformные структуры (Kulichevskaya et al., 2017). На текущий момент семейство насчитывает 7 родов: *Gemmata* (Franzmann, Skerman, 1984), *Zavarzinella* (Kulichevskaya et al., 2009), *Tuwongella* (Seeger et al., 2017), *Telmatocola* (Kulichevskaya et al., 2012), *Limnoglobus* (Kulichevskaya et al., 2020b), *Fimbriiglobus* (Kulichevskaya et al., 2017), *Frigoriglobus* (Kulichevskaya et al., 2020a) и *Thermogemmata* (Elcheninov et al., 2021). Одной из отличительных черт представителей данного семейства являются большие размеры геномов, в среднем 9×10^6 п.о., а у болотного планктомицета *Fimbriiglobus ruber* SP5^T – 12.3×10^6 п.о. (Ravin et al., 2018). Анализ геномных данных выявил высокое содержание в геномах планктомицетов гликозил-гидролаз, что может свидетельствовать о наличии

способности данных микроорганизмов к деградации различных полисахаридов (Kulichevskaya et al., 2020b). Согласно экспериментальным данным слабая целлюлозолитическая активность была показана для планктомицета *Telmatocola sphagniphila* SP2^T (Kulichevskaya et al., 2012) и *Frigoriglobus tundricola* PL17^T (Kulichevskaya et al., 2020a). Хитинолитические свойства были выявлены у болотного планктомицета *Fimbriiglobus ruber* SP5^T. Интересно, что рост микроорганизма был возможен, когда хитин использовался в качестве единственного источника азота, а не углерода (Ravin et al., 2018). Дополнительным свидетельством способности *Gemmata*-подобных планктомицетов к гидролизу хитина является увеличение доли этой группы бактерий в образцах торфа верхнего болота, обогащенных хитином, выявленного методом метатранскриптомного анализа (Ivanova et al., 2018).

Планктомицеты семейства *Gemmataceae* встречаются повсеместно. Несколько представителей новых родов данного семейства были выделены из пресноводных водоемов (Franzmann, Skerman, 1984; Seeger et al., 2017; Kulichevskaya et al., 2020b). В недавней работе был охарактеризован первый термофильный планктомицет рода *Thermogemmata*, изолированный из горячего источника Камчатки (Elcheninov et al., 2021). С введением в практику методов молекулярного анализа *Gemmata*-подобные планктомицеты были обнаружены в верховых сфагновых болотах (Куличевская и соавт., 2006; Ivanova, Dedysh, 2012; Dedysh, Ivanova, 2019). Попытки выделения новых микроорганизмов из данных экосистем привели к описанию четырех новых родов семейства *Gemmataceae* (Kulichevskaya et al., 2009, 2012, 2017, 2020a). Согласно исследованию, направленному на сравнение микробного разнообразия верховых и низинных болот, в последних *Gemmata*-подобные планктомицеты также составляли существенную долю бактериального сообщества (Ivanova et al., 2020).

Настоящая работа посвящена описанию первого планктомицета, выделенного из низинного болота северо-западной части России. Согласно сравнительному анализу генов 16S рРНК, ближайшими родственниками нового изолята были пресноводная *G. obscuriglobus* DSM 5831^T и "*G. massiliana*" ПЛ30, выделенная из воды больничной сети водоснабжения с оптимумом роста 30°C.

Таким образом, целью настоящего исследования явилось изучение совокупности экофизиологических и геномных характеристик нового штамма G18^T и определение его таксономического статуса.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Процедура выделения и условия культивирования. Штамм G18^T был выделен из образца торфа (рН 7.6), отобранного из низинного болота Радионское (Вологодская обл., 59°47'08" N, 37°52'08" E) на глубине 5–10 см. Изолят был получен путем высева пробы водной суспензии торфа на среду DSM 629 следующего состава (г/л дистиллированной воды): пептон – 5, дрожжевой экстракт – 0.5, циклогексимид – 0.05, раствор солей Хатнера – 20 мл; раствор витаминов (Staley et al., 1992) – 1 мл; рН 7.0. В качестве желирующего агента использовали 1% раствор полисахарида микробного происхождения фитагеля (PhytaGel, "Fluka"). Бактериальный газон, образовавшийся на твердой среде через 2 нед., микроскопировали и регулярно рассеивали методом истончающего штриха до получения изолированных колоний.

Идентификация микроорганизма. Выделение тотальной ДНК из клеток планктомицета производили с использованием набора FastDNA SPIN kit for soil ("Biol 101", США) в соответствии с ре-

комендацией производителя. Полученную ДНК использовали в качестве матрицы в ПЦР-амплификации генов 16S рРНК со стандартными бактериальными праймерами 9F/1492R (Lane, 1991). Очистку ПЦР-продуктов осуществляли с использованием набора Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System ("Promega", США). Секвенирование проводили на базе ЦКП "Биоинженерия" ФИЦ Биотехнологии РАН. Редактирование полученных нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit. Построение филогенетических дендрограмм производили с использованием программного пакета MEGAХ (Kumar et al., 2018) методом максимального правдоподобия. Статистическую достоверность дендрограмм рассчитывали с помощью "bootstrap"-анализа путем построения 100 альтернативных деревьев. Определенная в работе последовательность гена 16S рРНК планктомицета депонирована в GenBank под номером MW542577.

Геномное секвенирование и аннотирование. Выделение ДНК для геномного секвенирования осуществлялось по стандартному протоколу СТАВ – фенол/хлороформ. Часть геномной ДНК секвенировали на ячейке R9.4 прибора MinION ("Oxford Nanopore", Великобритания), используя Ligation Sequencing kit 1D, согласно рекомендациям производителя. Другая часть геномной ДНК была отсеквенирована на платформе Illumina MiSeq. Подготовка библиотеки и процедура секвенирования осуществлялась на базе фирмы "ReaGen" (Москва, Россия). Гибридная сборка прочтений Illumina и Nanopore была выполнена с использованием программы Unicycler (Wick et al., 2017) и BWA-MEM (Li, Durbin, 2009) с последующим сравнением качества в программах Quast (Gurevich et al., 2013) и Busco. Последовательность генома штамма G18^T депонирована в GenBank под номером JAGKQQ000000000.

Аннотацию генома проводили с помощью программного пакета PROKKA (Seemann, 2014) и BLASTKoala (Kanehisa et al., 2016). Поиск вторичных метаболитов осуществляли в программе AntiSmash (Medema et al., 2011). Построение геномного дерева производили в программе GTDB-Tk, путем множественного выравнивания 120 маркерных генов. В анализ так же были взяты геномы других охарактеризованных представителей семейства *Gemmataceae*.

Оценка ростовых характеристик культуры планктомицета. Определение ростовых характеристик изолята проводили при культивировании в жидкой среде, указанной выше, во флаконах на качалке (120 об./мин) в диапазоне температур от 4 до 35°C, значений рН от 4.0 до 8.0 и концентрации NaCl в среде 0–3.0%. Окислительное и ферментативное использование углеводов определяли с помощью набора API 20NE kit ("bioMérieux"). Энзи-

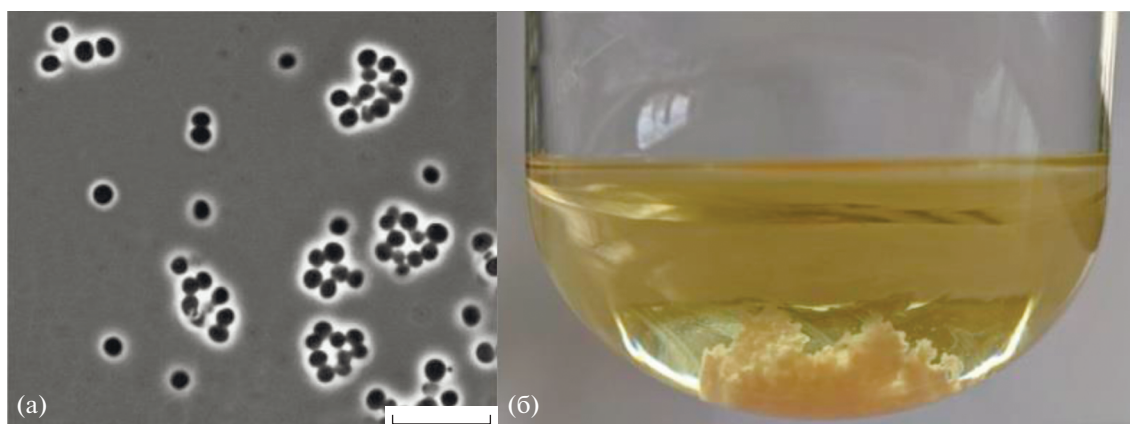


Рис. 1. а – Морфология клеток штамма G18^T; фазовый контраст, маркер – 10 мкм; б – рост культуры в жидкой среде с формированием слизевого агрегата.

матическую активность проверяли с использованием набора API ZYM (“bioMérieux”). В качестве ростовых субстратов тестировали сахара (глюкоза, сахароза, ксилоза, лактоза, манноза, раффиноза) и полимерные соединения (фитагель, крахмал, пектин, ксилан, ксантановая камедь, лихенан, хитин и микрокристаллическая целлюлоза (МКЦ)). Тестируемые субстраты вносили в концентрации 0.5 г/л. При этом в исходную среду № 629 не вносили пептон, а в качестве источника азота добавляли NH₄NO₃ в концентрации 0.1 г/л. Рост оценивали путем регулярных измерений оптической плотности культуры на спектрофотометре Eppendorf Biophotometer AG 22331 (Германия) при длине волны 600 нм. Перед измерением культуру активно встряхивали с целью ее гомогенизирования. Чувствительность штамма G18^T к антибиотикам проверяли на твердой среде путем наложения на газоны культуры тест-дисков с различными антибиотиками и последующим измерением зон подавления роста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделение, морфология и идентификация нового микроорганизма. Исследуемый штамм G18^T был выделен из пробы водной суспензии торфа низинного болота на твердой среде № 629 с фитагелем. При культивировании на твердой среде изолят формировал небольшие отдельные колонии розового цвета. Микроскопический анализ показал, что колонии образованы шаровидными клетками размером 1.2–2.8 мкм (рис. 1а). В жидкой среде № 629 планктомицет рос в виде бледно-розового слизевого агрегата (рис. 1б). Микроорганизм размножался почкованием. Клетки обладали подвижностью только в экспоненциальной фазе роста. В культуре встречались как одиночные клетки, так и их скопления в виде бесформенных агрегатов.

Идентификация и сравнительный анализ последовательности гена 16S рРНК штамма G18^T выявил 98.9% сходства с геном невалидированного планктомицета рода *Gemmata* – “*Gemmata massili-ana*” ПЛ30, выделенного из воды сети водоснабжения в госпитале во Франции (Aghnatiou et al., 2015) и 95.7% сходства с пресноводным планктомицетом *G. obscuriglobus* DSM 5831^T (Franzmann, Skerman, 1984) (рис. 2). Сходство 97.1% по генам 16S рРНК также было выявлено между штаммом G18^T и представителем другого рода геммат – *Frigoriglobus tundricola* PL17^T (Kulichevskaya et al., 2020a). Однако последующий филогеномный анализ позволил отнести новый изолят G18^T к планктомицетам рода *Gemmata*.

Физиологические характеристики. Штамм G18^T рос в интервале рН среды от 6.0 до 8.0 (оптимум рН 7.0) и солёности среды от 0 до 0.8% NaCl. Температурный диапазон роста планктомицета составил 4–28°C, с оптимумом при 15–20°C. Штамм не рос анаэробно в глубине столбика среды с фитагелем, что показывает, что он является строгим аэробом. Штамм обладал оксидазной активностью, каталазная и уреазная активности не были обнаружены.

Анализ ферментативных свойств штамма G18^T, проведенный с использованием стандартного набора API ZYM (“bioMérieux”), показал наличие активности ряда ферментов, включая щелочную фосфатазу, эстеразу (С4), липазу (С8), лейцин-, валин-цистин-ариламидазу, трипсин, α-химотрипсин, кислую фосфатазу и нафтол-AS-VI-фосфогидролазу. Отрицательный результат был показан для липазы (С14), α- и β-галактозидазы, β-глюкуронидазы, α- и β-глюкозидазы, N-ацетил-β-глюкозаминидазы, α-маннозидазы и α-фукозидазы. По результатам тестов системы API 20NE новый планктомицет не способен к брожению, а также к восстановлению нитратов до нитритов и молекулярного азота.

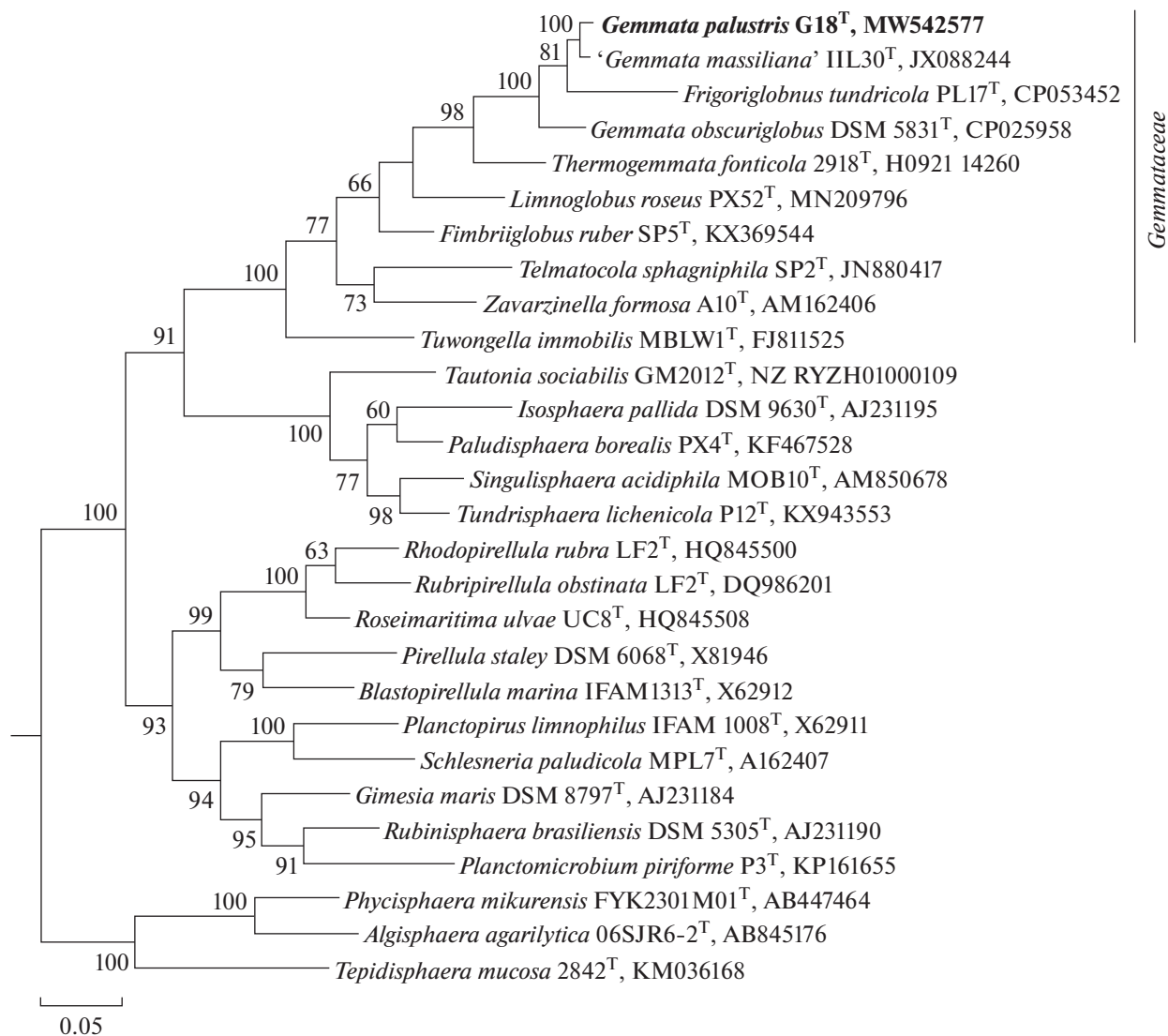


Рис. 2. Филогенетическая дендрограмма, построенная методом максимального подобия на основе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК штамма G18^T и других представителей филума *Planctomycetes*. В качестве внешней группы использованы нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК пяти апаммох-планктомицетов (AF375994, AF375995, AY254883, AY254882, AY257181). Показаны значения бутстрэп-анализа >60.

Проверка спектра используемых субстратов показала, что предпочтительными источниками углерода и энергии являются полисахариды пектин, ксилан, фитагель, ксантантановая камедь, лихенан, а также пептон и дрожжевой экстракт. На сахарах лактозе, маннозе, сахарозе, ксилозе и раффинозе рост планктомицета был значительно слабее. Крахмал, хитин и МКЦ ингибировали рост изолята (табл. 1).

Проверка устойчивости штамма G18^T к спектру антибиотиков выявила резистентные свойства к хлорамфениколу, олеандомицину, имипенему, цефотаксиму, амоксиклаву, фосфомицину и ванкомицину. Разница с другими представителя-

ми рода *Gemmata* была обнаружена по отношению к линкомицину, неомицину, стрептомицину, ампициллину и рифампицину. Штамм G18^T оказался чувствительным к вышеперечисленным антибиотикам, в то время как *G. obscuriglobus* DSM 5831^T проявляла резистентные свойства к данным веществам (табл. 1) (Ivanova et al., 2021).

Геномные характеристики. По итогам секвенирования на платформе Nanopore было получено 145171 прочтений с общей длиной 1.4×10^9 п.о. Дополнительный раунд секвенирования на платформе Illumina MiSeq сгенерировал в общей сложности 3061576 парных прочтений со средней длиной считывания 150 п.о. Программой Unicycler

Таблица 1. Отличительные признаки штамма G18^T и других видов рода *Gemmata*

Признак	Штамм G18 ^T	<i>G. obscuriglobus</i> DSM 5831 ^T	' <i>G. massiliana</i> ' ПЛ30
Размер клеток, мкм	1.2–2.8	1.4–3.0	1.1–2.1
Гомогенный рост	–	+	ND
pH, диапазон (оптимум)	6.0–8.0 (7.0)	7.8–8.8 (ND)	6.0–8.0 (8.0)
T, °C, диапазон (оптимум)	4–28 (15–20)	16–35 (ND)	25–37 (30)
Соленость, NaCl%	0–0.8	0–0.6	0–1.25
Оксидаза	+	–	–
Каталаза	–	+	–
Устойчивость к антибиотикам:			
линкомицин	S	R	ND
неомицин	S	R	ND
стрептомицин	S	R	ND
ампициллин	S	R	ND
рифампицин	S	R	S
Источники углерода:			
сахароза	+/-	+	ND
ксилоза	+/-	+	ND
лактоза	+/-	+	ND
манноза	+/-	+	ND
раффиноза	+/-	–	ND
пектин	++	+	ND
крахмал	–	+	ND
Размер генома, ×10 ⁶ п.о.	9.23	9.06	9.25
G + Ц, мол. %	65	67.4	64.1
Количество CDS	7631	7266	7985
Кластеры вторичных метаболитов, шт.	11	9	12
Источник выделения	Торф низинного болота, Россия	Пресный водоем, Австралия	Вода из больницы сети водоснабжения Франция

Примечание. S – чувствительный, R – устойчивый к данному антибиотику. +/- слабый рост.

удалось собрать последовательности с обеих платформ в 3 контига длинами 8313494, 905837 и 8905 п.о. Другой подход, осуществленный с помощью ассемблера BWA-MEM, привел к сборке единственного кольцевого контига длиной 9268081 п.о. Однако сборка генома первым методом согласно программам Quast и Busco оказалась более качественной и была взята для дальнейшего анализа. Содержание G + C в геноме штамма G18^T составило 65 мол. % (табл. 1). Геномным аннотатором

Prokka было предсказано 7631 потенциальных белок-кодирующих последовательностей, 3 копии оперона рРНК и 97 генов тРНК.

ДНК–ДНК гибридизация выявила следующие сходства штамма G18^T с двумя представителями рода *Gemmata*: 31.2 ± 2.5% с ближайшим гомологом “*G. massiliana*” ПЛ30 и с 21.8 ± 2.2% *G. obscuriglobus* DSM 5831^T. Согласно калькулятору ANI (average nucleotide identity) сходство генома G18^T с пред-

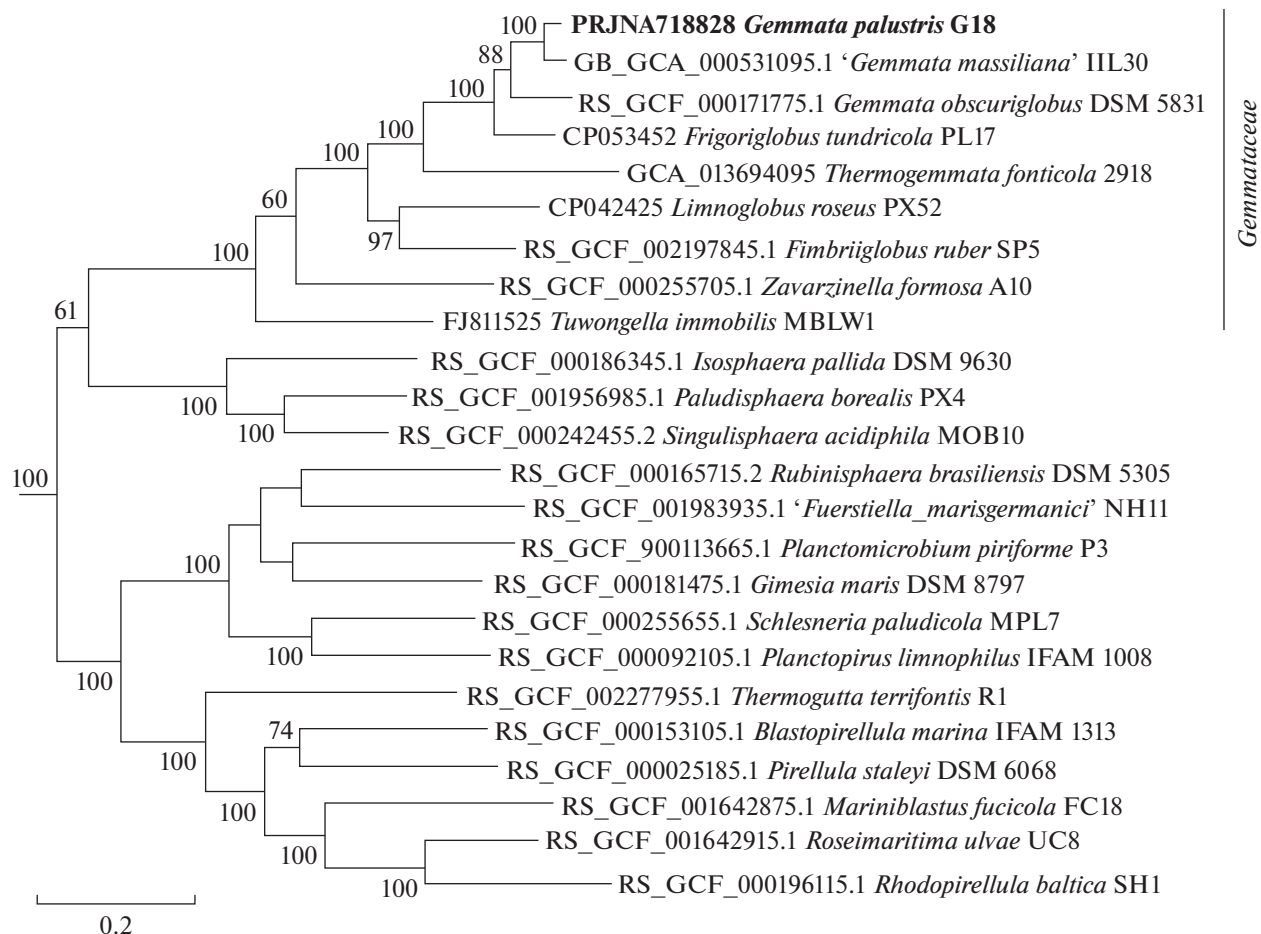


Рис. 3. Филогенетическая дендрограмма, основанная на анализе 120 конкатенированных последовательностей консервативных маркерных генов штамма G18^T и других представителей филума *Planctomycetes*. В качестве внешней группы использованы геномы апамтох-планктомицетов, доступные в базе данных GTDB. Показаны значения бутстрэп-анализа >60.

ставителями рода *Gemmata* составляло: 86.0% ("*G. massiliana*" IIL30) и 79.7% (*G. obscuriglobus* DSM 5831^T). Согласно таксономическим стандартам такие показатели геномного анализа достаточны для отнесения изолята к новому виду (Chun et al., 2018). Проведенный филогенетический анализ показал, что штамм G18^T кластеризуется с другими представителями рода *Gemmata* в семействе *Gemmataceae* (рис. 3).

Гены, кодирующие основные метаболические пути хемоорганотрофных бактерий, такие как гликолиз, ЦТК, пентозо-фосфатный путь и окислительное фосфорилирование, присутствуют у штамма G18^T. Также у планктомицета имеется геномный потенциал для синтеза всех аминокислот. Большинство генов, ответственных за хемотаксис, включая *cheB*, *cheR* и *cheW* обнаружены в геноме G18^T. У других представителей рода *Gemmata* данные гены также присутствуют. Как и у всех

планктомицетов, у новой гемматы G18^T не обнаружен ген *FtsZ*, ответственный за бинарное деление бактериальных клеток (Wiegand et al., 2018). Согласно недавнему исследованию для представителей семейства *Gemmataceae* характерны следующие гены, отвечающие за синтез пептидогликана: *mraW*, *lysM* и *murB* (Mahajan et al., 2020). У штамма G18^T они также были обнаружены.

Анализ вторичных метаболитов *in situ*. Планктомицеты обладают высоким потенциалом к синтезу вторичных метаболитов (Jeske et al., 2013). Недавно группой немецких ученых впервые было идентифицировано вещество стирелиацин, синтезируемое планктомицетом семейства *Pirellulaceae*, ответственное за формирование микроорганизмом биопленок (Kallscheuer et al., 2020).

В геноме штамма G18^T также был произведен поиск генных кластеров, необходимых для синтеза вторичных метаболитов. Вместе с исследуемым

планктомицетом были проанализированы геномы ближайших родственных организмов — “*G. massiliana*” ПЛ30 и *G. obscuriglobus* DSM 5831^T. По итогам анализа в геноме изолята G18^T было выявлено 11 кластеров, потенциально кодирующих синтез вторичных метаболитов (табл. 1, рис. 4). Из них два кластера отвечают за синтез нерибосомных пептид-синтетаз (NRPS), которые, наравне с поликетидсинтазами (PKS), являются ключевыми ферментами синтеза биологически активных веществ (Donadio et al., 2007). Ближайшие гомологи двух NRPS, кодируемые в геноме штамма G18^T, были обнаружены у планктомицета “*G. massiliana*” ПЛ30 (21 и 57% сходства). Один генный кластер отвечал за синтез резорцинол-подобного вещества. Классический резорцинол используют в производстве красителей, обеззараживающих средств и противоопухолевой терапии. Производные данного вещества в основном синтезируются растениями (Miyanaga, Horinouchi, 2009). Ближайший родственник к данному генному кластеру (52% сходства) был найден у “*G. massiliana*” ПЛ30. Также обнаружен единичный кластер генов, кодирующих синтез поликетидсинтаз (PKS) третьего типа. Ближайший гомологичный белок был у планктомицета семейства *Gemmataceae* — *Frigoriglobus tundricola* PL17^T (27% сходства) (Kulichevskaya et al., 2020a). Четыре кластера отвечали за производство терпенов — широкой группы органических веществ с антибиотическими, противоопухолевыми и гормональными свойствами (Yamada et al., 2012; Jeske et al., 2013). Гомологами в случае терпеновых кластеров являлись белки разных представителей семейства *Gemmataceae* со сходством от 64 до 89% (рис. 4). Три последних кластера (hgIE-KS и RiPP-like), также присутствующих в геноме G18^T, относились к разным типам поликетидсинтаз, согласно классификации программы AntiSmash. Ближайшие родственники к ним были обнаружены у “*G. massiliana*” ПЛ30 и *Gemmata* sp. SH-PL17 со сходством от 71 до 81% (рис. 4).

В геноме *G. obscuriglobus* DSM 5831^T было найдено 9 метаболических кластеров, в то время как у “*G. massiliana*” ПЛ30 обнаружили 12 кластеров (табл. 1). Ближайшие гомологи шести из 12-и кластеров, обнаруженных у “*G. massiliana*” ПЛ30, были выявлены в геноме штамма G18^T.

Проведенный сравнительный анализ морфологических, физиолого-биохимических и генетических характеристик нового изолята G18^T с известными представителями рода *Gemmata* позволил выявить ряд существенных различий, приведенных в табл. 1. Филогенетически новый штамм наиболее близок к выделенному из активированного ила невалидированному планктомицету “*Gemmata massiliana*” ПЛ30, но, в отличие от последнего, имеет оптимум роста при 15–20°C и предпочитает

более низкие значения pH. С *G. obscuriglobus* DSM 5831^T различия были обнаружены в спектре устойчивости к ряду антибиотиков, ростовых субстратов, оксидазной и каталазной активностям. Значения ДНК–ДНК гибридизации и ANI соответствуют стандартам таксономической классификации (Chun et al., 2018) для отнесения штамма G18^T к новому виду рода *Gemmata*.

Диагноз нового вида — *Gemmata palustris* sp. nov.

Gemmata palustris sp. nov. (pa. lus' tris. L. n. palus болото; M.L. adj. palustris обитающий в болотах). Шаровидные клетки диаметром 1.2–2.8 мкм, одиночные или объединенные в бесформенные скопления. Колонии розово-пигментированные. Дочерние клетки подвижные, материнские нет. В жидкой культуре рост наблюдался в виде слизевого агрегата. Облигатные аэробы. Психротолерантные мезофилы и нейтрофилы с оптимумом роста при 15–20°C и pH 7.0. Предпочтительные ростовые субстраты — полисахариды, в том числе пектин, ксилан, фитагель и ксантантановая камедь. Слабый рост на сахарозе, глюкозе, ксилозе, лактозе, раффинозе и маннозе. Оксидазо-положительный, каталаза- и уреазо-отрицательный. Обнаружены активности ряда ферментов: щелочной фосфатазы, эстеразы (C4), липазы (C8), лейцин-, валин-, цистин-ариламидазы, трипсина, α-химотрипсина, кислой фосфатазы и нафтол-AS-VI-фосфогидролазы. Отрицательный результат был показан для липазы (C14), α- и β-галактозидазы, β-глюкуронидазы, α- и β-глюкозидазы, N-ацетил-β-глюкозаминидазы, α-маннозидазы и α-фукозидазы. Размер генома штамма G18^T составляет 9.23 × 10⁶ п.о., содержание G + C в ДНК составляло 65 мол. %. Типовой штамм G18^T нового таксона депонирован в двух международных коллекциях микроорганизмов — КСТС и VKM: под номерами КСТС 82682 и VKM В-3541Т. Местообитания — низинные болота.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта РФФ 19-74-00130.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, в которых в качестве объектов использовались животные или участвовали люди.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

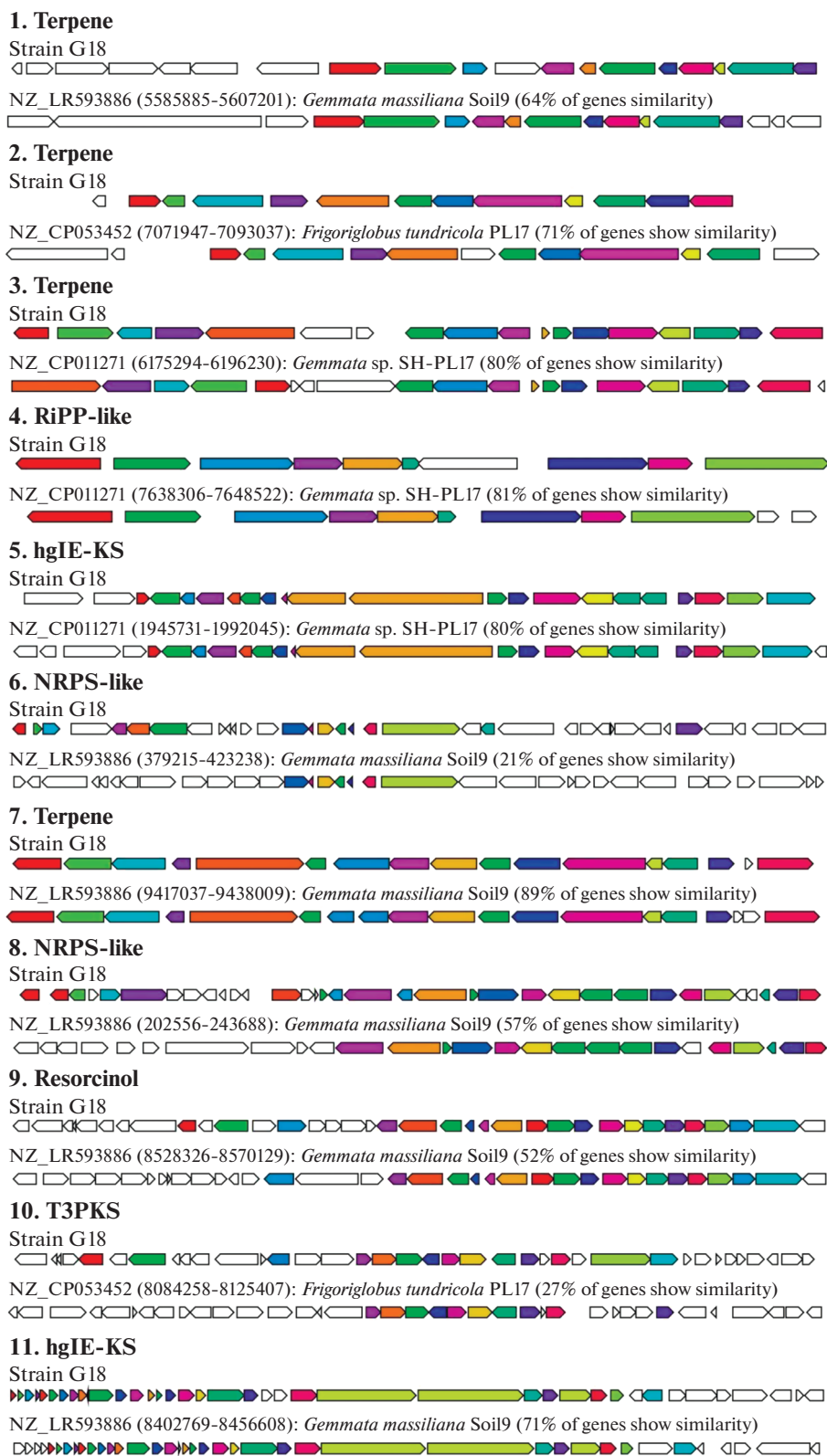


Рис. 4. Состав генных кластеров, отвечающих за синтез вторичных метаболитов, обнаруженных в геноме штамма G18^T. Для каждого кластера приведены соответствующие ближайшие гены-гомологи других микроорганизмов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Куличевская И.С., Панкратов Т.А., Дедыш С.Н. Анализ бактериального сообщества, развивающегося при разложении сфагнума // Микробиология. 2007. Т. 76. С. 702–710.
- Kulichevskaya I.S., Belova S.E., Kevbrin V.V., Dedysh S.N., Zavarzin G.A. Analysis of the bacterial community developing in the course of sphagnum moss decomposition // Microbiology (Moscow). 2007. V. 76. P. 621–629.
- Aghnatiou R., Cayrou C., Garibal M., Robert C., Azza S., Raoult D., Drancourt M. Draft genome of *Gemmata massili-ana* sp. nov., a water-borne *Planctomycetes* species exhibiting two variants // Stand Genomic Sci. 2015. V. 10. Art. 120.
- Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., da Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X.-W., De Meyer S., Trujillo M.E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2018. V. 68. P. 461–466.
- Dedysh S.N., Ivanova A.A. *Planctomycetes* in boreal and subarctic wetlands: diversity patterns and potential ecological functions // FEMS Microbiol. Ecol. 2019. V. 95. fyy227.
- Donadio S., Monciardini P., Sosio M. Polyketide synthases and nonribosomal peptide synthetases: the emerging view from bacterial genomics // Nat. Prod. Rep. 2007. V. 24. P. 1073–1109.
- Elcheninov A.G., Podosokorskaya O.A., Kovaleva O.L., Novikov A.A., Toshchakov S.V., Bonch-Osmolovskaya E.A., Kublanov I.V. *Thermogemmata fonticola* gen. nov., sp. nov., the first thermophilic planctomycete of the order *Gemmatales* from a Kamchatka hot spring // Syst. Appl. Microbiol. 2021. V. 44. Art. 126157.
- Franzmann P.D., Skerman V.B. *Gemmata obscuriglobus*, a new genus and species of the budding bacteria // Antonie Van Leeuwenhoek. 1984. V. 50. P. 261–268.
- Fuerst J.A., Gwilliam H.G., Lindsay M., Lichanska A., Belcher C., Vickers J.E., Hugenholtz P. Isolation and molecular identification of planctomycete bacteria from postlarvae of the giant tiger prawn, *Penaeus monodon* // Appl. Environ. Microbiol. 1997. V. 63. P. 254–262.
- Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies // Bioinformatics. 2013. V. 29. P. 1072–1075.
- Ivanova A.A., Beletsky A.V., Rakitin A.L., Kadnikov V.V., Philippov D.A., Mardanov A.V., Ravin N.V., Dedysh S.N. Closely located but totally distinct. highly contrasting prokaryotic diversity patterns in raised bogs and eutrophic fens // Microorganisms. 2020. V. 8. Art. 484.
- Ivanova A.A., Wegner C.-E., Kim Y., Liesack W., Dedysh S.N. Metatranscriptomics reveals the hydrolytic potential of peat-inhabiting *Planctomycetes* // Antonie Van Leeuwenhoek. 2018. V. 111. P. 801–809.
- Ivanova A.A., Miroshnikov K.K., Oshkin I.Y. Exploring antibiotic susceptibility, resistome and mobilome structure of planctomycetes from *Gemmataceae* family // Sustainability. 2021. V. 13. Art. 5031.
- Ivanova A.O., Dedysh S.N. Abundance, diversity, and depth distribution of *Planctomycetes* in acidic northern wetlands // Front. Microbiol. 2012. V. 3. Art. 5.
- Jeske O., Jogler M., Petersen J., Sikorski J., Jogler C. From genome mining to phenotypic microarrays. *Planctomycetes* as source for novel bioactive molecules // Antonie Van Leeuwenhoek. 2013. V. 104. P. 551–567.
- Kallscheuer N., Jeske O., Sandargo B., Boedeker C., Wiegand S., Bartling P., Jogler M., Rohde M., Petersen J., Medema M.H., Surup F., Jogler C. The planctomycete *Stieleria maiorica* Mal15^T employs stieleriicines to alter the species composition in marine biofilms // Commun. Biol. 2020. V. 3. Art. 303.
- Kanehisa M., Sato Y., Morishima K. BlastKOALA and GhostKOALA. KEGG tools for functional characterization of genome and metagenome sequences // J. Mol. Biol. 2016. V. 428. P. 726–731.
- Kulichevskaya I.S., Baulina O.I., Bodelier P.L.E., Rijpstra W.I.C., Sinninghe Damsté J.S., Dedysh S.N. *Zavarzinella formosa* gen. nov., sp. nov., a novel stalked, *Gemmata*-like planctomycete from a Siberian peat bog // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2009. V. 59. P. 357–364.
- Kulichevskaya I.S., Ivanova A.A., Baulina O.I., Rijpstra W.I.C., Sinninghe Damsté J.S., Dedysh S.N. *Fimbrioglobus ruber* gen. nov., sp. nov., a *Gemmata*-like planctomycete from *Sphagnum* peat bog and the proposal of *Gemmataceae* fam. nov. // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2017. V. 67. P. 218–224.
- Kulichevskaya I.S., Ivanova A.A., Naumoff D.G., Beletsky A.V., Rijpstra W.I.C., Damsté J.S.S., Mardanov A.V., Ravin N.V., Dedysh S.N. *Frigoriglobus tundricola* gen. nov., sp. nov., a psychrotolerant cellulolytic planctomycete of the family *Gemmataceae* from a littoral tundra wetland // Syst. Appl. Microbiol. 2020. V. 43. Art. 126129.
- Kulichevskaya I.S., Naumoff D.G., Miroshnikov K.K., Ivanova A.A., Philippov D.A., Hakobyan A., Rijpstra W.I.C., Sinninghe Damsté J.S., Liesack W., Dedysh S.N. *Limnoglobus roseus* gen. nov., sp. nov., a novel freshwater planctomycete with a giant genome from the family *Gemmataceae* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2020. V. 70. P. 1240–1249.
- Kulichevskaya I.S., Serkebaeva Y.M., Kim Y., Rijpstra W.I.C., Damsté J.S.S., Liesack W., Dedysh S.N. *Telmatocola sphagniphila* gen. nov., sp. nov., a novel dendriform planctomycete from northern wetlands // Front. Microbiol. 2012. V. 3. Art. 146.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X. Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. P. 1547–1549.
- Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics / Ed. Stackebrandt E., Goodfellow M. N.Y.: John Wiley & Sons, 1991. P. 115–175.
- Li H., Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler transform // Bioinformatics. 2009. V. 25. P. 1754–1760.
- Mahajan M., Seeger C., Yee B., Andersson S.G.E. Evolutionary remodeling of the cell envelope in *Bacteria* of the *Planctomycetes* phylum // Genome Biol. Evol. V. 12. P. 1528–1548.
- Medema M.H., Blin K., Cimermanic P., De Jager V., Zakrzewski P., Fischbach M.A., Weber T., Takano E., Breitling R. AntiSMASH: rapid identification, annotation and analysis of secondary metabolite biosynthesis gene clusters in bacterial and fungal genome sequences // Nucleic Acids Res. 2011. V. 39. P. W339–W346.
- Miyana A., Horinouchi S. Enzymatic synthesis of bis-5-alkylresorcinols by resorcinol-producing type III polyketide synthases // J. Antibiot. (Tokyo). 2009. V. 62. P. 371–376.
- Ravin N.V., Rakitin A.L., Ivanova A.A., Beletsky A.V., Kulichevskaya I.S., Mardanov A.V., Dedysh S.N. Genome anal-

ysis of *Fimbriiglobus ruber* SP5T, a planctomycete with confirmed chitinolytic capability // Appl. Environ. Microbiol. 2018. V. 84.

<https://doi.org/10.1128/AEM.02645-17>

Seeger C., Butler M.K., Yee B., Mahajan M., Fuerst J.A., Andersson S.G.E. *Tuwongella immobilis* gen. nov., sp. nov., a novel non-motile bacterium within the phylum *Planctomycetes* // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2017. V. 67. P. 4923–4929.

Simão F.A., Waterhouse R.M., Ioannidis P., Kriventseva E.V., Zdobnov E.M. BUSCO: assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs // Bioinformatics. 2015. V. 31. P. 3210–3212.

Staley J.T., Fuerst J.A., Giovannoni S., Schlesner H. The order *Planctomycetales* and the genera *Planctomyces*, *Pirellula*,

Gemmata, and *Isosphaera* // The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications / Ed. Balows A., Trüper H.G., Dworkin M., Harder W., Schleifer K.-H. N.Y.: Springer, 1992. P. 3710–3731.

Wick R.R., Judd L.M., Gorrie C.L., Holt K.E. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads // PLoS Comput. Biol. 2017. V. 13. e1005595.

Wiegand S., Jogler M., Jogler C. On the maverick *Planctomycetes* // FEMS Microbiol. Rev. 2018. V. 42. P. 739–760.

Yamada Y., Cane D.E., Ikeda H. Diversity and analysis of bacterial terpene synthases // Methods in Enzymology, 1st ed. / Ed. Hopwood D.A. Academic Press, 2012. P. 123–162.

Gemmata palustris sp. nov., a Novel Planctomycete from a Fen in Northwestern Russia

A. A. Ivanova^{1,*}, I. S. Kulichevskaya¹

¹Winogradsky Institute of Microbiology, Research Center of Biotechnology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: ivanovastasja@gmail.com

Received April 22, 2021; revised May 13, 2021; accepted May 13, 2021

Abstract—Planctomycetes are common inhabitants of northern wetlands. In the present work, a novel representative of the genus *Gemmata*, strain G18^T, was isolated from a fen of northwestern Russia. The cells were spherical, occurring singly or in small groups, motile in the exponential growth phase. Strain G18^T was a chemoorganotrophic, psychrotolerant microorganism, with growth optima at pH 7.0 and 15–20°C. The preferred growth substrates were polysaccharides pectin, xylan, lichenan, xanthan gum, and phytigel. Among the taxonomically characterized representatives of this order, highest levels of 16S rRNA gene sequence similarity (95.7–98.9%) were observed with the freshwater planctomycete *Gemmata obscuriglobus* DSM 5831^T and “*Gemmata massiliana*” IIL30. The genome of strain G18^T consisted of a 9.23-Mb chromosome, containing 7631 protein-coding genes and 3 copies of the rRNA operon (the 5S, 16S, and 23S rRNA genes). The G + C content of the chromosomal DNA was 65 mol %. According to ANI, the values of similarity between strain G18^T and other *Gemmata* strains were 86.0% (“*G. massiliana*” IIL10) and 79.7% (*G. obscuriglobus* DSM 5831). Based on the results of comparative phenotypic, physiological, and phylogenomic analyses, we propose to classify strain G18^T (=KCTC 82682 = VKM B-3541^T) as belonging to a novel species of the genus *Gemmata*, *Gemmata palustris* sp. nov.

Keywords: *Planctomycetes*, family *Gemmataceae*, genus *Gemmata*, fens