МИКРОБИОЛОГИЯ, 2022, том 91, № 6, с. 720–725

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ДЕГРАДАЦИЯ ГЛИЦИНБЕТАИНА В РЕАКЦИИ СТИКЛЕНДА ГАЛОАЛКАЛОФИЛЬНОЙ БАКТЕРИЕЙ *HALONATRONOMONAS BETAINI*, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ СОДОВОГО ОЗЕРА ТАНАТАР III

© 2022 г. Е. Н. Деткова[a], Ю. В. Болтянская[a], В. В. Кевбрин[a], *

[a] *Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, 119071 Россия*

**e-mail: kevbrin@inmi.ru*

Поступила в редакцию 07.06.2022 г.
После доработки 14.06.2022 г.
Принята к публикации 14.06.2022 г.

Обнаружена способность галоалкалофильного микроорганизма *Halonatronomonas betaini* Z-7014^T использовать глицинбетаин как акцептор электронов в реакции Стикленда с его последующим восстановительным расщеплением до триметиламина и ацетата. В качестве доноров электронов использовались лейцин, аланин, валин, изолейцин и серин, а также неидентифицированные олигопептиды, входящие в состав таких белковых гидролизатов, как дрожжевой экстракт, триптон, пептон и сойтон. Максимальная стимуляция роста культуры бетаином была получена на дрожжевом экстракте. Для сочетаний аминокислота + бетаин были определены соотношения субстрат/продукт и получены балансовые уравнения. Впервые продемонстрирована деградация бетаина в реакции Стикленда для алкалофильных микроорганизмов, входящих в состав биоценозов содовых озер.

Ключевые слова: бетаин, аминокислоты, триметиламин, реакция Стикленда, галоалкалофилы, содовые озера

DOI: 10.31857/S002636562260050X

Содовые озера представляют собой особые водные экосистемы, отличительной чертой которых является присутствие, помимо хлорида, также и карбоната/бикарбоната натрия в различных, вплоть до насыщающих, концентрациях, что, соответственно, определяет устойчивые значения pH среды в щелочном диапазоне. Несмотря на экстремальные условия, такие экосистемы характеризуются высоким биоразнообразием галофильных микроорганизмов с разной степенью алкалофилии (Grant, Jones, 2016). Развитие любых микробных биоценозов сопровождается как ростом, так и отмиранием клеток, в результате чего в микроокружении живых клеток появляются органические компоненты отмершей микробной биомассы. Одним из таких компонентов, характерных именно для биоценозов, населяющих водоемы с повышенной концентрацией натрия, является глицинбетаин.

Глицинбетаин (далее бетаин) представляет собой триметилированное производное глицина, является широко распространенным осморегулятором и обнаруживается повсеместно в клетках живых организмов от бактерий и архей до растений, морских простейших и млекопитающих (Yancey et al., 1982; Galinski, Truper, 1994; Annunziata et al., 2019). С точки зрения экологической микробиологии наибольший интерес представляют процессы анаэробной деструкции бетаина, при котором его разложение является неполным и приводит к образованию веществ с меньшей молекулярной массой, могущих служить субстратами для других микроорганизмов биоценоза. Изучение бактериальной анаэробной деструкции бетаина началось с 80-х гг. XX в. и продолжается с некоторыми перерывами до настоящего времени, причем основными объектами выступали сначала негалофильные, а затем галофильные бактерии (Oren, 1990; Zou et al., 2016).

Анаэробные галоалкалофилы, участвующие в разложении бетаина, впервые были выделены и подробно охарактеризованы лишь недавно сотрудниками ФИЦ Биотехнологии РАН (Sorokin, 2021; Boltyanskaya et al., 2022). В обеих работах исходным материалом послужили природные образцы гиперсоленых озер Алтайского края. В первой работе из накопительных культур с бетаином было получено два штамма – ANB-GB1 и ANB-GB2, относящиеся к роду *Natroniella* и способные к сбраживанию бетаина до триметиламина (TMA) и ацетата, а также штамм AArc-GB, относящийся к роду *Halalkaliarchaeum* (Sorokin, 2021). Последний разлагал бетаин в окислительно-восстановительной реакции с серой как акцептором электронов.

Во второй работе был выделен штамм Z-7014^T, образовавший новый род и вид, *Halonatronomonas betaini*, в порядке *Halanaerobiales* (Boltyanskaya et al., 2022). Несмотря на то, что исходно штамм был выделен на минеральной среде с бетаином, рост чистой культуры в этих условиях был крайне слабым (максимальная оптическая плотность ($ОП_{600}$) 0.04), но воспроизводимым на протяжении 5 последовательных пересевов. В каждом пересеве был детектирован ТМА, являющийся характерным продуктом анаэробного разложения бетаина. В этой связи мы выдвинули предположение, что штамм Z-7014^T использует бетаин не как источник энергии и углерода, а как акцептор электронов, донором которых служат компоненты дрожжевого экстракта в низкой концентрации (0.2 г/л). Последний часто добавляют в среды для алкалофилов как источник ростовых факторов. В этом случае слабый рост может объясняться лимитированием одним из компонентов редокс-реакции.

Целью данной работы было проверить это предположение, выявить возможность роста штамма Z-7014^T с бетаином как акцептором на пептидах и индивидуальных аминокислотах, оценить стимулирующий эффект, провести анализ возможных продуктов реакций и составить для них балансовые уравнения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Организм и культивирование. В работе использовали типовой штамм *Halonatronomonas betaini* Z-7014^T (=КСТС 25237^T, =VKM B-3506^T), выделенный из осадков содового озера Танатар III (Алтайский край, Россия). Организм культивировали в строго анаэробных условиях при 42°C в пробирках Хангейта или бутылях объемом 500 мл на минеральной среде с pH 8.5, описанной ранее (Boltyanskaya et al., 2022).

Концентрации белковых гидролизатов в опытах (дрожжевой экстракт, пептон, сойтон, триптон, казаминовые кислоты) составляли 1.5 г/л. Для скрининга на предмет использования аминокислот совместно с бетаином их также вносили до конечной концентрации 1.5 г/л. Для получения балансовых уравнений концентрации аланина, лейцина, изолейцина и валина были около 11 мМ, серина – 20 мМ. Раствор бетаина, предварительно нейтрализованный 12 М NaOH, вносили в среды до конечной концентрации 3 г/л (19.5 мМ). Такие значения были взяты, исходя из описанных в литературе соотношений аминокислота/бетаин (Naumann et al., 1983). Среды с аминокислотами дополняли (г/л): NH_4Cl – 0.5, дрожжевым экстрактом – 0.2, а также раствором витаминов – 10 мл/л (Drake, 1994).

Засев производили культурами, взятыми из середины логарифмической фазы роста, из расчета 1–3% (об./об.). Опыты проводили в трех независимых повторностях. Все полученные данные являются усредненными по результатам этих экспериментов.

Определение роста. Рост культуры контролировали по увеличению оптической плотности (ОП) при 600 нм на спектрофотометре КФК-3 (Россия) в 1-см кюветах.

Аналитические методы. В культуральной жидкости, свободной от клеток, измеряли концентрации субстратов и продуктов микробной активности. Аммоний определяли по реакции с реактивом Несслера после изотермической микровозгонки в виде свободного аммиака. В образце культуральной жидкости, оставшейся после удаления аммония, определяли концентрацию аминокислот методом с *о*-фталевым диальдегидом (Alvarez-Coque et al., 1989). Для каждой аминокислоты была построена своя калибровочная кривая. Бетаин определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Стайер (“Аквилон”, Россия). Разделение проводили на колонке Partisil 5 ODS 3 (“Whatman”, США). Состав элюента: 20 мМ KH_2PO_4, 10 мМ KOH, 1% ацетонитрила; pH 6.9, расход 0.8 мл/мин. Детектирование проводили с УФ детектором при 210 нм. ТМА, ацетат и другие летучие жирные кислоты (ЛЖК) определяли методом ГЖХ на хроматографе Кристалл 5000.2 (“Хроматэк”, Россия). Газ-носитель – азот, детектор – пламенно-ионизационный. Образцы для определения ТМА подщелачивали 6 М KOH в герметично закрытой виале, перемешивали и 1 мкл жидкой фазы вводили в капиллярную колонку PoraPLOT 25 м × 0.32 мм × 10 мкм (“Phenomenex”, США). Температурный режим колонки – изотермический, 160°C. Образцы для определения ЛЖК подкисляли 5 М фосфорной кислотой, перемешивали и 1 мкл образца вводили в насадочную колонку 1 м × 3 мм, заполненную фазой Carbopack C, 0.3% Carbowax 20M, 0.1% H_3PO_4 (“Supelco”, США). Температурный режим колонки – программируемый.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние бетаина на рост *H. betaini* на белковых гидролизатах. Ранее нами было показано, что штамм Z-7014^T способен сбраживать коммерческие пептидоподобные субстраты, но не белки (Boltyanskaya et al., 2022). Предпочтительным оказался дрожжевой экстракт, рост на триптоне, сойтоне и пептоне был более слабым. С учетом поставленной задачи представлялось важным проверить, стимулирует ли присутствие бетаина рост штамма на этих белковых гидролизатах (рис. 1а, 1б). Как видно из графиков, наиболее значительную стимуляцию роста (3–3.5-кратная) наблюдали для пары дрожжевой экстракт + бетаин. При росте на триптоне наличие бетаина приводило к

увеличению конечной ОП культуры примерно вдвое, однако абсолютные значения оставались существенно более низкими, чем даже в случае дрожжевого экстракта без акцептора. Напротив, на сойтоне и пептоне в первые трое суток роста в случае присутствия бетаина стимуляция была либо очень слабой (сойтон), либо вовсе отсутствовала (пептон). В обоих случаях в отсутствие бетаина рост на сойтоне и пептоне достигал максимума через 3 сут, после чего начинался лизис. В присутствии бетаина рост на сойтоне продолжался и после 3 сут, тогда как на пептоне ОП достигала максимума через 3 сут и оставалась примерно постоянной, без признаков лизиса культуры. Возможно, при росте на пептоне бетаин играет роль не акцептора, а вещества, оказывающего стабилизирующее действие на клетки. Разница в стимулирующем эффекте может быть частично связана с различиями в аминокислотном составе белковых гидролизатов (табл. 1). Также известно, что, помимо аминокислот, эти гидролизаты содержат олигопептиды различной длины, количества которых не нормируются, а дрожжевой экстракт, кроме того, содержит еще и вещества небелковой природы (Zimbro, Power, 2003).

Помимо увеличения ОП при росте на среде с дрожжевым экстрактом и бетаином было обнаружено 4-кратное в сравнении с ростом без бетаина возрастание концентрации ацетата – основного продукта брожения белков, а также появление 7.8 мМ ТМА, индикатора использования бетаина. В присутствии бетаина также появился набор ЛЖК, характерных для анаэробного распада белков (менее 1 мМ каждой): пропионат, *изо*-бутират, н-бутират, 2-метилбутират и *изо*-валерат. Исходя из полученных результатов, представлялось важным оценить возможность стимуляции роста бетаином, заменив дрожжевой экстракт индивидуальными аминокислотами.

Влияние бетаина на использование аминокислот *H. betaini*. Ранее было показано, что *H. betaini* не сбраживает ни одну из 20 кодируемых (протеиногенных) аминокислот (Boltyanskaya et al., 2022). Однако отсутствие роста на индивидуальных аминокислотах не исключает возможности их утилизации в окислительно-восстановительной реакции с внешним акцептором – бетаином в нашем случае. Оказалось, что в таких условиях рост штамма поддерживают пять из 20 протестированных аминокислот – лейцин, аланин, валин, изолейцин и серин. Стимуляции роста бетаином на остальных аминокислотах либо не происходило вообще, либо эффект был крайне слабым. На рис. 2 представлены данные по росту штамма Z-7014^T на парах аминокислота + бетаин, а в табл. 2 показаны количества использованных субстратов, образовавшихся продуктов, а также соотношения

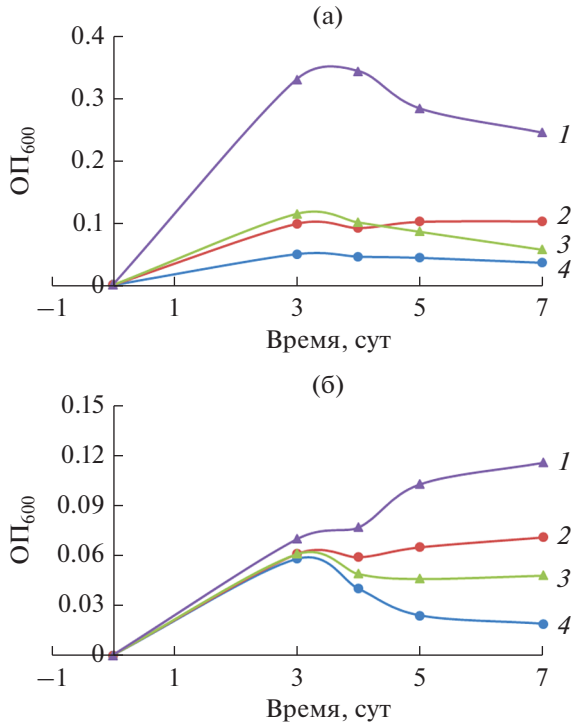

Рис. 1. Динамика роста *H. betaini* на белковых гидролизатах с бетаином и без него: (а) – (*1*) дрожжевой экстракт + бетаин; (*2*) триптон + бетаин; (*3*) дрожжевой экстракт; (*4*) триптон; (б): – (*1*) сойтон + бетаин; (*2*) пептон + бетаин; (*3*) сойтон; (*4*) пептон.

Таблица 1. Процентное содержание свободных аминокислот в белковых гидролизатах Bacto (BD, USA) (Zimbro, Power, 2003). Показаны только те аминокислоты, которые использует штамм Z-7014^T

Аминокислота	Пептон	Сойтон	Триптон	Дрожжевой экстракт	Казаминовые кислоты
Аланин	1.2	0.4	1.0	4.4	3.0
Изолейцин	0.6	0.6	1.3	1.8	3.1
Лейцин	1.6	1.7	4.8	3.0	4.6
Серин	0.4	0.3	0.7	1.3	4.3
Валин	0.7	0.4	1.7	2.2	4.7
Сумма	4.5	3.4	9.5	12.7	19.7

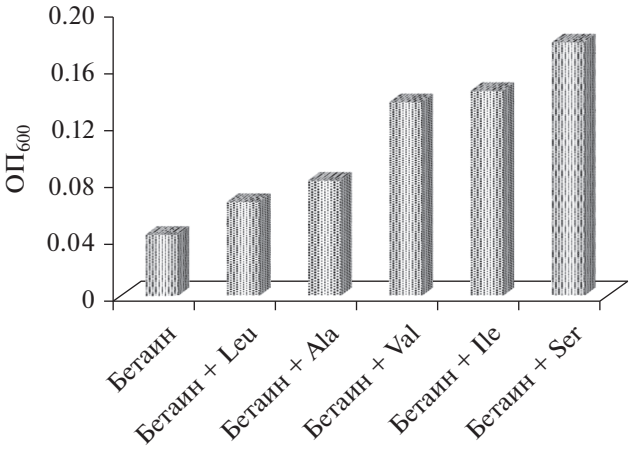

Рис. 2. Максимально достигнутые значения ОП при росте *H. betaini* на аминокислотах с бетаином.

между ними. Как видно из табл. 2, во всех случаях основными продуктами являлись ацетат, ТМА и аммиак. При росте на лейцине, изолейцине и валине дополнительно обнаруживались продукты дезаминирования этих аминокислот – *изо*-валерат, 2-метилбутират и *изо*-бутират соответственно. Следует отметить, что те же органические кислоты были идентифицированы при росте *H. betaini* на дрожжевом экстракте, что говорит о способности организма использовать одновременно и пептиды, и свободные аминокислоты. Продукты неполного восстановления бетаина – N,N-диметилглицин и саркозин, а также монометиламин и диметиламин среди продуктов реакций обнаружены не были. Потребление аланина, изолейцина и валина оказалось практически полным, тогда как лейцин и серин израсходовались лишь частично. При этом максимальный рост с бетаином наблюдался на серине, а минимальный – на лейцине. Рост на аланине с бетаином был почти вдвое слабее, чем на изолейцине, валине или серине, однако количества образовавшихся продуктов были близки (рис. 2, табл. 2). Возможно, распад аминокислот различался по энергетическому выходу.

Интересным является тот факт, что, несмотря на хороший рост на индивидуальных аминокислотах с бетаином, рост на паре казаминовые кислоты + бетаин был близок к контролю ($ОП_{600}$ 0.03). При этом удельное содержание пяти аминокислот, используемых штаммом Z-7014^T, в казаминовых кислотах было выше, чем в дрожжевом экстракте (табл. 1). Мы предполагаем, что при совместном присутствии пептидов и аминокислот (как в дрожжевом экстракте), штамм Z-7014^T, возможно, предпочитает пептиды, а не аминокислоты. В составе казаминовых кислот пептидов нет (Zimbro, Power, 2003). С другой стороны, отсутствие роста может быть связано с низким удельным суммарным содержанием лейцина, аланина, валина, изолейцина и серина в казаминовых кислотах: 1.5 г/л казаминовых кислот соответствуют 0.3 г/л этих аминокислот в сумме. Однако четырехкратное увеличение концентрации казаминовых кислот не привело к заметному улучшению роста.

Впервые совместное использование аминокислот в реакции Стикленда с бетаином как акцептором было продемонстрировано у анаэробной бактерии *Clostridium sporogenes* (Naumann et al., 1983). Как и в случае *H. betaini*, бетаин в качестве единственного субстрата не использовался. Для лейцина, аланина, валина и изолейцина авторами были определены продукты реакций и получено общее балансовое уравнение:

$$R{-}CH(NH_2){-}COOH + 2бетаин + 2H_2O \rightarrow$$
$$\rightarrow 2ацетат + 2ТМА + CO_2 + NH_3 + R{-}COOH,$$

где $R{-}CH_3$ для аланина, для остальных трех аминокислот структуры, соответствующие каждой аминокислоте.

Таблица 2. Количественные значения субстратов и продуктов при росте *H. betaini* на аминокислотах с бетаином. Символ Δ обозначает разницу между начальным и конечным значением. Ак – аминокислота, Бет – бетаин. Все концентрации веществ даны в мМ

Субстрат	Δ $ОП_{600}$	Δ Ак	Δ Бет	Δ Ацетат	Δ Другие ЛЖК	Δ NH_3	Δ ТМА	Δ Бет/ Δ Ак	Δ Ак/Δ NH_3	Δ Бет/Δ ТМА	Δ Ак/Δ ЛЖК
Бетаин	0.04	–	4.3	3.9	–	0.5	3.5	–	–	1.2	–
Бетаин + Leu	0.07	6.1	13.5	12.0	*Изо*-валерат 4.2	5.4	10.1	2.2	1.1	1.3	1.5
Бетаин + Ala	0.08	9.7	18.8	30.3	–	8.3	14.9	1.9	1.2	1.3	–
Бетаин + Val	0.14	8.9	18.1	17.0	*Изо*-бутират 6.4	9.7	16.7	2.1	0.9	1.1	1.4
Бетаин + Ile	0.14	9.4	19.5	19.8	2-Метилбутират 8.6	8.3	17.8	2.1	1.1	1.1	1.1
Бетаин + Ser	0.18	11.2	12.0	23.5	–	9.9	11.6	1.1	1.1	1.0	–

Проведенные балансовые расчеты (колонки отношений субстрат/продукт в табл. 2) показали соответствие полученных нами отношений коэффициентам в вышеприведенном уравнении. Такое же соответствие получено нами и для серина, для которого не было обнаружено иных продуктов, кроме нижеперечисленных, и для которого известно следующее уравнение (Mouné et al., 1999):

$$\text{Серин} + \text{бетаин} + H_2O \rightarrow$$
$$\rightarrow 2\text{ацетат} + \text{ТМА} + CO_2 + NH_3.$$

После пионерской работы Naumann et al. (1983) было обнаружено, что среди видов рода *Clostridium* реакция Стикленда с бетаином довольно распространена (Möller et al., 1986), а позднее было выделено еще несколько таксономически разных анаэробов, способных к осуществлению этой реакции: *Peptoclostridium* (ранее *Eubacterium*) *acidaminophilum* (Zindel et al., 1988), *Clostridium halophilum* и *Peptoclostridium* (ранее *Clostridium*) *litorale* (Fendrich et al., 1990), *Haloanaerobacter salinarius* (Mouné et al., 1999), *Halanaerobacter lacunarum* (ранее *Halobacteroides lacunaris*) (La Cono et al., 2015), "*Oceanirhabdus seepicola*" (Li et al., 2021).

В анаэробных условиях деградация бетаина происходит тремя различными способами: 1) брожением; 2) использованием в качестве субстрата и донора электронов в окислительно-восстановительной реакции; 3) использованием в качестве акцептора электронов при росте на аминокислотах (реакция Стикленда) и других веществах-доноров, среди которых формиат, водород и другие, ключевые для микробного сообщества метабиотики.

К бродильщикам относятся *Eubacterium limosum* (Müller et al., 1981), *Sporomusa sphaeroides* и *S. ovata* (Möller et al., 1984), *Acetohalobium arabaticum* (Жилина, Заварзин, 1990), *Haloanaerobium alcaliphilum* (Tsai et al., 1995), а также алкалофильные штаммы *Natroniella* spp. (Sorokin, 2021), осуществляющие этот процесс в условиях содовых озер. Использование бетаина как донора с сульфатом в качестве акцептора электронов характерно, в частности, для видов *Desulfobacterium* (Heijthuijsen, Hansen, 1989) и галоалкалофильной археи *Halalkaliarchaeum* sp. (Sorokin, 2021).

Таким образом, к началу наших исследований восстановление бетаина было продемонстрировано только для микроорганизмов, выделенных из пресноводных и соленых водоемов, но оставалось неизвестным для алкалофилов. Следовательно, *H. betaini* является первым организмом, осуществляющим эту реакцию в условиях высокой карбонатной щелочности.

Учитывая, что *H. betaini* был выделен из природного сообщества, можно предположить, что он является важным компонентом трофической цепи, разлагающим глицинбетаин с образованием ТМА и ацетата – известных субстратов для метаногенных и сульфатредуцирующих бактерий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность д. б. н. Т.Н. Жилиной за предоставление штамма Z-7014^T для работы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит результатов исследований, полученных с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Жилина Т.Н., Заварзин Г.А. Новая экстремально галофильная гомоацетатная бактерия *Acetohalobium arabaticum* gen. nov., sp. nov. // Доклады АН СССР. 1990. Т. 311. С. 745–747.

Zhilina T.N., Zavarzin G.A. A new extremely halophilic homoacetate bacterium *Acetohalobium arabaticum* gen. nov., sp. nov. // Dokl. Akad. Nauk SSSR. 1990. V. 311. P. 745–747.

Alvarez-Coque M.C., Hernandez M.J., Camanas R.M., Fernandez C. Studies on the formation and stability of isoindoles derived from amino acids, *o*-phthalaldehyde and N-acetyl-L-cysteine // Anal. Biochem. 1989. V. 180. P. 172–176.

Annunziata M.G., Ciarmiello L.F., Woodrow P., Dell'Aversana E., Carillo P. Spatial and temporal profile of glycine betaine accumulation in plants under abiotic stresses // Front. Plant. Sci. 2019. V. 10. P. 230.

Boltyanskaya Y.V., Kevbrin V.V., Grouzdev D.S., Detkova E.N., Koziaeva V.V., Novikov A.A., Zhilina T.N. Halonatronomonas betaini gen. nov., sp. nov., a haloalkaliphilic isolate from soda lake capable of betaine degradation, and proposal of *Halarsenatibacteraceae* fam. nov. and *Halothermotrichaceae* fam. nov. within the order *Halanaerobiales* // Syst. Appl. Microbiol. 2022. (в печати).

La Cono V., Arcadi E., La Spada G., Barreca D., Laganà G., Bellocco E., Catalfamo M., Smedile F., Messina E., Giuliano L., Yakimov M.M. A three-component microbial consortium from deep-sea salt-saturated anoxic Lake Thetis links anaerobic glycine betaine degradation with methanogenesis // Microorganisms. 2015. V. 3. P. 500–517.

Drake H.L. Acetogenesis, acetogenic bacteria, and the acetyl-CoA ''Wood/Ljungdahl'' pathway: past and current perspectives // Acetogenesis / Ed. Drake H.L. Chapman & Hall, N.Y., 1994. P. 3–60.

Fendrich C., Hippe H., Gottschalk G. Clostridium halophilium sp. nov. and *C. litorale* sp. nov., an obligate halophilic and a marine species degrading betaine in the Stickland reaction // Arch. Microbiol. 1990. V. 154. P. 127–132.

Galinski E.A., Trüper H.G. Microbial behaviour in salt-stressed ecosystems // FEMS Microbiol. Rev. 1994. V. 15. P. 95–108.

Grant W.D., Jones B.E. Bacteria, archaea and viruses of soda lakes // Soda Lakes of East Africa / Ed. Schagerl M. Springer International Publishing, Switzerland, 2016. P. 97–147.

Heijthuijsen J.H.F.G., Hansen T.A. Anaerobic degradation of betaine by marine *Desulfobacterium* strains // Arch. Microbiol. 1989. V. 152. P. 393–396.

Li L., Zhang W., Zhang S., Song L., Sun Q., Zhang H., Xiang H., Dong X. Bacteria and archaea synergistically convert glycine betaine to biogenic methane in the Formosa cold seep of the South China Sea // mSystems. 2021. V. 6. P. e0070321.

Möller B., Hippe H., Gottschalk G. Degradation of various amine compounds by mesophilic clostridia // Arch. Microbiol. 1986. V. 145. P. 85–90.

Möller B., Oßmer R., Howard B.H., Gottschalk G., Hippe H. Sporomusa, a new genus of gram-negative anaerobic bacteria including *Sporomusa sphaeroides* spec. nov. and *Sporomusa ovata* spec. nov. // Arch. Microbiol. 1984. V. 139. P. 388–396.

Mouné S., Manac'h N., Hirschler A., Caumette P., Willison J.C., Matheron R. Haloanaerobacter salinarius sp. nov., a novel halophilic fermentative bacterium that reduces glycine-betaine to trimethylamine with hydrogen or serine as electron donors; emendation of the genus *Haloanaerobacter* // Int. J. Syst. Bacteriol. 1999. V. 49. P. 103–112.

Müller E., Fahlbusch K., Walther R., Gottschalk G. Formation of N,N-dimethylglycine, acetic acid, and butyric acid from betaine by *Eubacterium limosum* // Appl. Environ. Microbiol. 1981. V. 42. P. 439–445.

Naumann E., Hippe H., Gottschalk G. Betaine: New oxidant in the Stickland reaction and methanogenesis from betaine and L-alanine by a *Clostridium sporogenes–Methanosarcina barkeri* coculture // Appl. Environ. Microbiol. 1983. V. 45. P. 474–483.

Oren A. Formation and breakdown of glycine betaine and trimethylamine in hypersaline environments // Antonie van Leeuwenhoek. 1990. V. 58. P. 291–298.

Sorokin D.Y. Microbial utilization of glycine betain in hypersaline soda lakes // Microbiology (Moscow). 2021. V. 90. P. 569–577.

Tsai C.-R., Garcia J.-L., Patel B.K.C., Cayol J.-L., Baresi L., Mah R.A. Haloanaerobium alcaliphilum sp. nov., an anaerobic moderate halophile from the sediments of Great Salt Lake, Utah // Int. J. Syst. Bacteriol. 1995. V. 45. P. 301–307.

Yancey P.H., Clark M.E., Hand S.C., Bowlus R.D., Somero G.N. Living with water stress: evolution of osmolyte systems // Science. 1982. V. 217. P. 1214–1222.

Zimbro M.J., Power D.A. (eds.). Difco & BBL Manual. Sparks, MD: Becton, Dickinson and Company, 2003.

Zindel U., Freudenberg W., Rieth M., Andreesen J.R., Schnell J., Widdel F. Eubacterium acidaminophilum sp. nov., a versatile amino acid-degrading anaerobe producing or utilizing H_2 or formate. Description and enzymatic studies // Arch. Microbiol. 1988. V. 150. P. 254–266.

Zou H., Chen N., Shi M., Xian M., Song Y., Liu J. The metabolism and biotechnological application of betaine in microorganism // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2016. V. 100. P. 3865–3876.

Glycine Betaine Degradation via the Stickland Reaction by a Haloalkaliphilic Bacterium *Halonatronomonas betaini* Isolated from the Tanatar III Soda Lake

E. N. Detkova[1], Yu. V. Boltyanskaya[1], and V. V. Kevbrin[1, *]

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

**e-mail: kevbrin@inmi.ru*

Received June 7, 2022; revised June 14, 2022; accepted June 14, 2022

Abstract—The haloalkaliphilic microorganism *Halonatronomonas betaini* Z-7014^T was found to use glycine betaine as an electron acceptor in the Stickland reaction, resulting in its subsequent degradation to trimethylamine and acetate. The electron donors used were leucine, alanine, valine, isoleucine, and serine, as well as unidentified oligopeptides present in such protein hydrolysates as yeast extract, tryptone, peptone, and soytone. The most pronounced growth stimulation by betaine was observed in the presence of yeast extract. The substrate/product ratios were determined for the combinations of amino acids and betaine, and the balance equations were obtained. This is the first report on betaine degradation in the Stickland reaction by alkaliphilic microorganisms from soda lake biocoenoses.

Keywords: betaine, amino acids, trimethylamine, Stickland reaction, haloalkaliphiles, soda lakes