

УДК 579.266

**ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АРКТИЧЕСКИХ ПАЛЕОБАКТЕРИЙ:
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ, ЭКОЛОГИЯ И ЭВОЛЮЦИЯ.
ОБЗОР**

Петров С. А., Мальчевский В. А., Субботин А. М., Суховой Ю. Г.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр Тюменский научный центр Сибирского отделения Российской
академии наук, Тюмень, Россия
E-mail: tumiki@yandex.ru*

Приведен литературных обзор бактериальных вторичных метаболитов (B-SMs), обеспечивающие бактериям конкурентное селективное преимущество в соперничестве за субстрат. Они продуцируются во время стационарной/идиофазы цикла роста бактерий генными кластерами, обычно известными как биологические генные кластеры (BGCs), которые производят разнообразные биоактивные вещества, прямо или косвенно способствующие здоровью растений путем продукции антибиотиков, деградирующих ферментов, сидерофоров и др. Эти B-SMs в основном включают фосфолипиды, пептиды, полипептиды, хинолы, поликетиды, алкалоиды, полиены, феназины, летучие вещества, аминоксахара, макролактоны и аминогликозиды. B-SMs широко используются в качестве противогрибковых, антибактериальных, противовирусных, противоопухолевых и противоводорослевых биоактивных компонентов благодаря их эффективной защите от различных заболеваний растений, управлению биотическим стрессом и способности вызывать ответную реакцию хозяина. Данный обзор дает представление о ряде важных характеристик B-SMs арктических палеобактерий, основанные на собственных исследованиях их продукции, таксономического разнообразия, классификацию на основе SMs и использование в качестве защитных молекул против патогенов и биотического стресса.

Ключевые слова: бактериальные вторичные метаболиты (B-SMs), арктические палеобактерии, управление стрессом при болезнях растений, биоконтроль, здоровье растений, PGPR, фитопатогены.

ВВЕДЕНИЕ

Арктика является крупным мировым биомом высокой природоохранной ценности, который играет важную роль в регулировании глобального углеродного баланса и климата Земли. В этом биоме микробное таксономическое и функциональное разнообразие арктических почв оказалось очень разнообразным и сложным, но во многих отношениях сравнимым с таковым в других биомах, несмотря на суровые условия окружающей среды. Как и в случае с другими биомами, было обнаружено, что микробное разнообразие варьируется в зависимости от горизонта/глубины почвы, между экосистемами: например, тундра, торф [1]. Несмотря на то, что почвенные микроорганизмы (МО) оказывают существенное влияние на рост и развитие растений, тем не менее, анализ литературных данных показал, что в мире практически не уделяется внимание изучению влияния арктических МО и их метаболитов на современные растительные

объекты. Приоритетными направлениями исследований являются определение видового разнообразия, особенностей экологии МО, определение пределов длительности криоанабиоза, биотехнологический потенциал [2–7].

Результаты исследования *in vitro* показали, во-первых, высокую жизнеспособность арктических МО в диапазоне температур от $-186\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $98\text{ }^{\circ}\text{C}$. Во-вторых, они на любые изменения температуры внешней среды в сторону как повышения (до $42\text{ }^{\circ}\text{C}$), так и понижения (до $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$) относительно средней температуры многолетнемерзлых пород ($-5\text{ }^{\circ}\text{C}$) отвечает всплеском ферментативной активности, что является их отличительной особенностью по сравнению с современными аналогами.

Известно, что продукция метаболитов является общим свойством МО в естественной среде, включая эукариоты и прокариоты. Бактерии производят множество метаболитов с различными функциями управления биотическим стрессом [8]. В-SMs – это композиты, которые не являются необходимыми для обеспечения жизнедеятельности или репликации бактерий; однако они образуются, чтобы предать организму селективное преимущество. В-SMs – это низкомолекулярные продукты вторичного метаболизма, имеющие массу менее 2,5 KDa [9] и вырабатываемые минорными категориями микробов. В-SMs помогают сохранять межвидовой антагонизм, обеспечивают механизмы самозащиты и способность к размножению [10]. Многочисленные В-SMs выполняют свою роль в борьбе со стрессом растений, включая защитные механизмы, выступая в качестве антибиотиков и производя пигменты [11]. В-SMs, состоящие из терпенов, фенольных соединений, азота (N) и серы (S), защищают растения от различных биотических и абиотических стрессов, в том числе от патогенных МО, особенно грибов, бактерий и других паразитов [12].

Нами из метаболитов арктического штамма M3 *Bacillus sp.* выделены особые химические вещества – олигомеры, имеющие в основе двухосновный алкалоид и нарастающую цепь из звеньев этиленгликоля в виде «гребенки». Известно, что молекулы подобного строения могут значимо усиливать иммунный ответ организма [81–84].

Патогенные МО и их воздействие на растения могут быть снижены благодаря существованию PGPR (ризобактерии, способствующие росту растений), обладающих тактикой биоконтроля, которые снижают воздействие патогена на растение с помощью механизма ISR (индуцированной системной резистентности) [13, 14] и путем предоставления многочисленных видов В-SMs, продуцирующие в стационарной фазе, особенно в идиофазе их цикла роста, как показано на рис. 1. В-SMs действуют как защитные молекулы против многочисленных стрессов, связанных с болезнями, либо путем прямого ингибирования роста фитопатогенов и косвенно **стимулируя** защитные силы растений [15–17], фиксируют азот, продуцируют ауксины, сидерофоры, различные деградирующие ферменты, которые преобразуют сложные полимеры в простую потребляемую форму, солюбилизируют фосфаты [11, 18, 19].

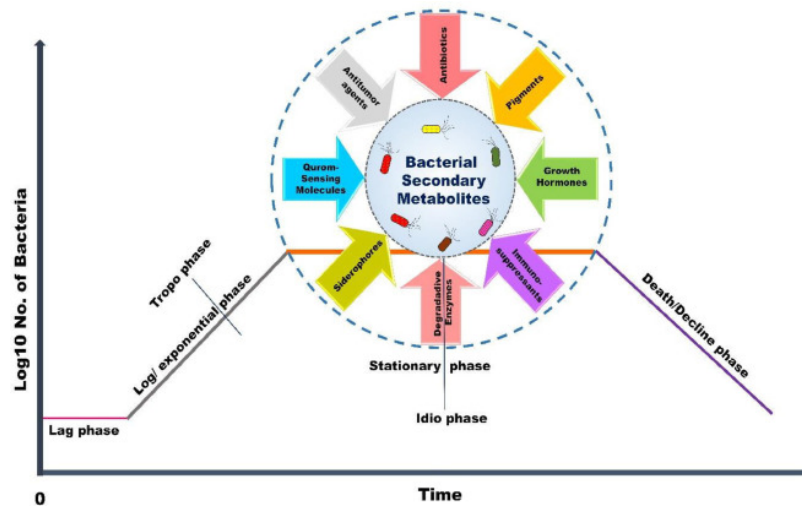


Рис. 1. Кривая роста бактерий, представляющая производство В-SMs в идиофазе [85].

В-SMs химически и функционально разнообразны и обладают удивительной антимикробной, ростстимулирующей, гербицидной, инсектицидной и антипаразитарной активностью [18]. В-SMs в основном состоят из фосфолипидов, пептидов, полипептидов, хинолов, поликетидов, алкалоидов, полиенов, феназинов, летучих веществ, аминоксахаров, макролактона и аминогликозидов.

2. ТАКСОНОМИЯ АРКТИЧЕСКИХ ПАЛЕОБАКТЕРИЙ – КАНДИДАТОВ В ПРОДУЦЕНТЫ В-SMs ДЛЯ РАСТЕНИЕВОДСТВА

Бактерии производят около двух третей всех имитирующих природу антибиотиков, используемых в настоящее время в медицине, ветеринарной практике и агрономии [20], большинство которых были получены из рода *Streptomyces* [21, 22]. Существует бесчисленное множество видов бактерий, способных генерировать большое количество В-SMs, которые находят разнообразное применение в управлении биотическим стрессом: бактерии родов *Bacillus*, актиномицеты, *Pseudomonas*, *Serratia* [23, 24] и многие другие [25–43].

Количество арктических палеобактерий, выявленных нами из мерзлых образцов 30-метрового разреза эпикриогенной толщи, варьировало в пределах от 10^4 до 10^8 КОЕ/г, по степени обогащенности – от «очень бедной» до «средней». Метагеномный анализ с использованием нуклеотидной последовательности 16S rRNA у арктических палеобактерий показал бактериальное разнообразие, представленное в основном 13 видами (см. рис. 2). При этом, выявлен с высоким коэффициентом аппроксимации ($R^2 = 0,9218$) тренд к увеличению количества пиримидиновых олигонуклеотидных последовательностей микробиоты с увеличением глубины залегания ($y = 11,433x + 454,78$).

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АРКТИЧЕСКИХ ПАЛЕОБАКТЕРИЙ...

Домен	Тип	Класс	Порядок	Семейство	Род	Вид			
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micrococccaceae	Kocuria	Kocuria rhizophila			
	Proteobacteria	Gamma proteobacteria	Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter	Acinetobacter radioresistens			
				Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Pseudomonas putida			
						Pseudomonas fluorescens			
			Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Stenotrophomonas	Stenotrophomonas maltophilia			
			Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	Enterobacter	Enterobacter spp			
			Betaproteobacteria	Burkholderiales	Alcaligenaceae	Bordetella	Bordetella bronchiseptica		
			Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Bacillus	Bacillus cereus	
									Bacillus megaterium
									Bacillus subtilis
Staphylococcaceae	Staphylococcus	Staphylococcus saprophyticus							
Listeriaceae	Listeria	Listeria seeligeri serovar							
Lactobacillales	Enterococcaceae	Enterococcus				Enterococcus faecalis			

Рис. 2. Таксономия бактерий, выделенных из многолетнемерзлых пород.

Процент идентичности фрагментов нуклеотидных последовательностей 16S rRNA гена микробиоты мерзлых грунтов составил от 88 до 100 %. При идентификации в Gene Bank данных культур максимальная идентичность (более 99 %) была получена со следующими референтными штаммами (см. рисунок 3): с глубины до 10 м – *Acinetobacter sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus megaterium*; с глубины 10–20 метров – *Bordetella avium or bronchis*, *Bacillus megaterium*, *Kocuria rhizophila*; с глубины более 20 м – *Bordetella avium or bronchis*. Данные культуры по гену 16S rRNA были идентифицированы как *Acinetobacter sp.*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus megaterium*, *Bordetella avium or bronchis*, *Bacillus megaterium*, *Kocuria rhizophila* и *Bordetella avium or bronchis*. В отношении 3 штаммов идентификация в Gene Bank была на уровне ниже 95 %: *Pseudomonas sp.*, *Bacillus cereus*, *Stenotrophomonas maltophilia* с глубины 10–20 м.

Большую часть бактерий в мерзлых грунтах составляли представители класса Bacilli (46,5 % всех бактериальных последовательностей) и большинство из них принадлежали к семейству *Bacillaceae* (50 % всех бактерий, в основном род *Bacillus*), известные представители которого являются аэробами или факультативными анаэробами, большинство представителей хемоорганогетеротрофы и растут на простых питательных средах. Некоторые виды способны к нитратредукции. По методу Грамма окрашиваются положительно. Недавние исследования [44] выявили, что бактерии вида *Bacillus subtilis* способны к

каннибализму во время споруляции путём продукции токсинов в окружающую среду и дальнейшем лизису клеток своего вида – микробному апоптозу.

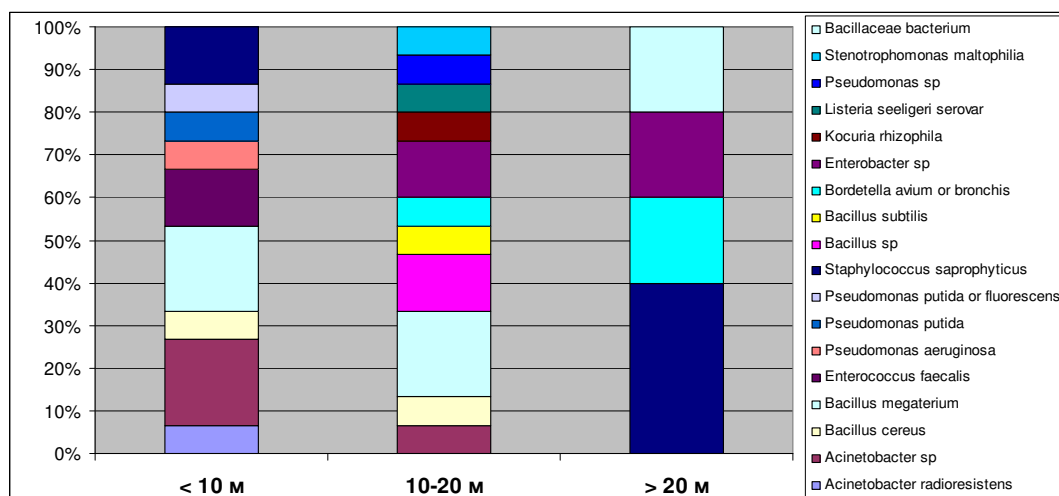


Рис. 3. Структура микробных сообществ, определенная в результате анализа последовательностей 16S рНК.

По данным анализа результатов сиквенса 16S rRNA было построено филогенетическое дерево бактерий рода *Bacillus* с гомологичными штаммами (см. рисунок 4). На втором месте по распространенности (приблизительно 38,46 % всех последовательностей 16S рНК) были бактерии класса *Gamma*proteobacteria и большинство из них принадлежали к семейству *Pseudomonadaceae* (40 % всех бактерий, в основном род *Pseudomonas*), известные представители которого относятся к сапрофитам и патогенам. В-SMs которых способны утилизировать разнообразные природные и неприродные соединения в качестве источника углерода и энергии.

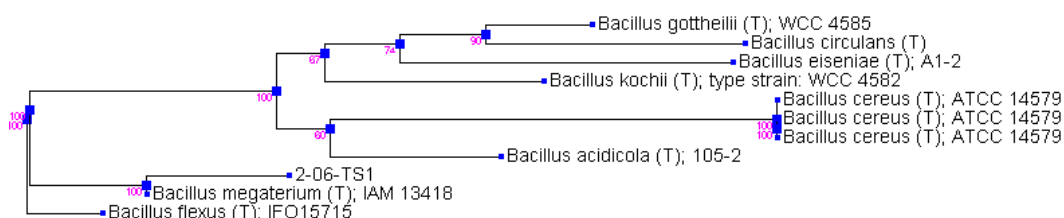


Рис. 4. Филогенетическое дерево бактерий рода *Bacillus* с гомологичными штаммами.

Уникальной считается способность представителей данного рода для питания использовать ароматические соединения: фенол, камфору, нафталин, сацилат, толуол и другие, не утилизируемые другими МО. Характерная особенность В-SMs

псевдомонад – способность деградировать химические соединения (различные пестициды), содержащие в составе атомы брома, фтора, ртути, хлора. Некоторые виды способны расщеплять поверхностно-активные вещества (сульфанол, додецилсульфат натрия, алкилсульфонат), синтетические полимеры (капролактан, *п*-нитро-анилин, тринитротолуол). Некоторые бактерии рода, обитающие в ризосфере растений, обладают способностью фиксировать молекулярный азот.

Таким образом, степень сблоченности нуклеотидов в 16S рРНК изученных арктических палеобактерий специфична в межвидовом аспекте. Выявлены различия в структуре геномов исследуемых МО в зависимости от глубины их залегания по содержанию компонентов, различающихся соотношением тимидиловых и цитидиловых нуклеотидных остатков, обусловлены главным образом контрастами в содержании коротких тимидиловых блоков, состоящих из 2 атомов азота и 4 атомов углерода. С увеличением глубины залегания блочная структура 16S рРНК имеет векторный характер. Эволюция генома бактерий, исходя из анализа соотношений цитидиловых и тимидиловых остатков в изоплитах 16S рРНК, имеет следующие общие черты их организации: а) наибольшим содержанием в составе изоплита отличаются компоненты, включающие в свой состав оба пиримидиновых нуклеотида и большей частью те, которые обогащены тимидиловой кислотой; б) по мере уменьшения глубины залегания длина последовательности 16S рРНК растет, а степень их обогащенности аденином падает.

3. ПРОДУКЦИЯ B-SMs ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ РОСТА РАСТЕНИЙ

Природные материалы всегда играют главную роль в создании новых терапевтических средств [45]. Исторически сложилось так, что большинство антибиотиков и других B-SMs, таких как пигменты и противоопухолевые агенты, были получены из почвенных бактерий, которые можно выделить и вырастить в лаборатории [46]. Традиционная методология получения новых биологически активных соединений, имеющих исключительно отличительные химические структуры и генетическую значимость, зависит от разнообразных МО, выделенных из разных полюсов и часто из защищенной среды.

Оптимальное производство B-SMs может быть достигнуто путем оптимизации составов сред путем изменения компонентов среды, т.е. потребности в питательных веществах (источник С и N), температуры и рН. Этот процесс производства обычно осуществляется с помощью погружной ферментации, а выделенные B-SMs могут быть охарактеризованы с помощью различных аналитических методов, таких как HPLC (высокоэффективная жидкостная хроматография), GC-MS (газовая хромато-масс-спектрометрия), ИК-Фурье, ЯМР и других.

Нами показано, что арктические палеобактерии, которые были выделены с глубины до 10 м из арктических почв, относятся к более современным представителям микробного сообщества. Осваивая экологическую нишу (внутри эволюционно «молодой» микробиоты) МО проявляют конкурентные отношения между собой в виде антагонистической активности в борьбе за питательный субстрат. Длительно существующие микробные сообщества, выделенные с глубин более 20 м, где присутствует достаточное количество питательных веществ, в

процессе взаимоадаптации утрачивают факторы, способствующие антагонистической активности. Выявлено, что с глубиной возрастает устойчивость МО и снижается их чувствительность к антибиотикам ($y = 0,7223x + 8,6569$ при $R^2 = 0,7205$). При этом большинство штаммов чувствительно к воздействию таких антибиотиков, как ципрофлоксацин, гентамицин, канамицин; устойчивы к антибиотикам: линкомицину, продуцентом которого являются актиномицеты рода *Streptomyces*, оксациллину, бензилпенициллину, продуцентом которых является семейство *Penicilium*. Причем большинство арктических палеобактерий было устойчиво к нескольким антибиотикам. Очевидно в природных условиях штаммы, устойчивые к действию нескольких антибиотиков, возникают в ходе длительного эволюционного процесса.

Таким образом, чем ближе структура антибиотика к природным абиотическим факторам почвенных МО, тем ниже к ним чувствительность арктических палеобактерий. В процессе эволюции микробиот происходила адаптация МО к абиотическим факторам, используемых ими в конкуренции за пищевые ресурсы. Возможно, что бактерии стали устойчивыми еще до перехода дисперсных обводненных грунтов в мерзлое состояние. Резистентность к антибиотикам распространялась среди бактерий ещё до наступления «эры антибиотиков». Аналогичные результаты были получены специалистами института молекулярной генетики РАН и кафедры почв МГУ им. М. В. Ломоносова, которые исследовали бактерии, выделенные из арктической вечной мерзлоты [47].

С помощью стандартной методики просвечивающей электронной микроскопии [48] с использованием электронного микроскопа Jeol JEM-1011 (“JEOL”, Япония) и ультрамикротомы Leica EM UC7 (Германия) нами была рассмотрена ультраструктурная организация арктического штамма палеобактерии рода *Bacillus sp.*. Выделены некоторые структурные особенности их сообщества в биопленках, в которых *Bacillus sp.* образуют хорошо организованное сообщество с многочисленными специализированными конфигурациями (см. рис. 5). Установлен размер бацилл ($880,88 \pm 117,18$ на $624,03 \pm 54,57$ нм), толщина их клеточной стенки – $19,43 \pm 3,04$ нм. При этом клеточная стенка относительно проницаема. Об этом свидетельствуют наличие вокруг бактериальных клеток множество круглых секреторных везикул размером $46,01 \pm 3,1$ нм, окруженных однослойными мембранами и располагающиеся только в пределах биопленки. Эти везикулы объединены в цепочки. При этом размер везикул коррелировал с длиной ($r = 0,909$ при $p = 0,012$) и площадью ($r = 0,865$ при $p = 0,26$) бактерий. Внутри этих везикул как раз и содержатся вторичные бактериальные метаболиты.

Для определения метаболома использовался штамм *Bacillus sp.* при культивировании его при 4°C . В-SMs *Bacillus sp.* подвергались последовательной ультрафильтрации через фильтры УПМ-Пс 6000. Полученный бессолевой концентрат ультрафильтрата с М.М. от 10 до 0,5 кД наносили на колонку диаметром 15x50 см с мелкопористым сефадексом G-15 (Pharmacia, Sweden). Регистрацию выходящих вслед за свободным объемом пиков (фракций) осуществляли при помощи аппарата Unicord (LKB, Sweden). В каждой фракции определяли количество и качество выходящих продуктов, подвергая их в последующем

лиофилизации. Для дальнейшей очистки выделенные фракции подвергали обращенно-фазовой хроматографии высокого давления при помощи жидкостного хроматографа фирмы Gilson (France), собирали и лиофилизовали (см. рис. 6).

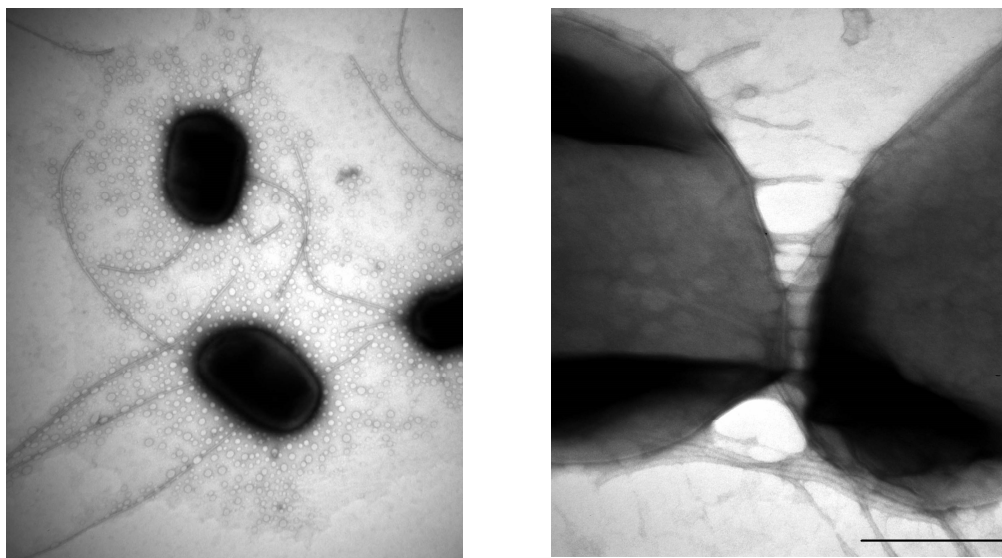


Рис. 5. Микрофотографии бактерий рода *Bacillus* sp, фазовый контраст, масштабная линейка 20 нм.

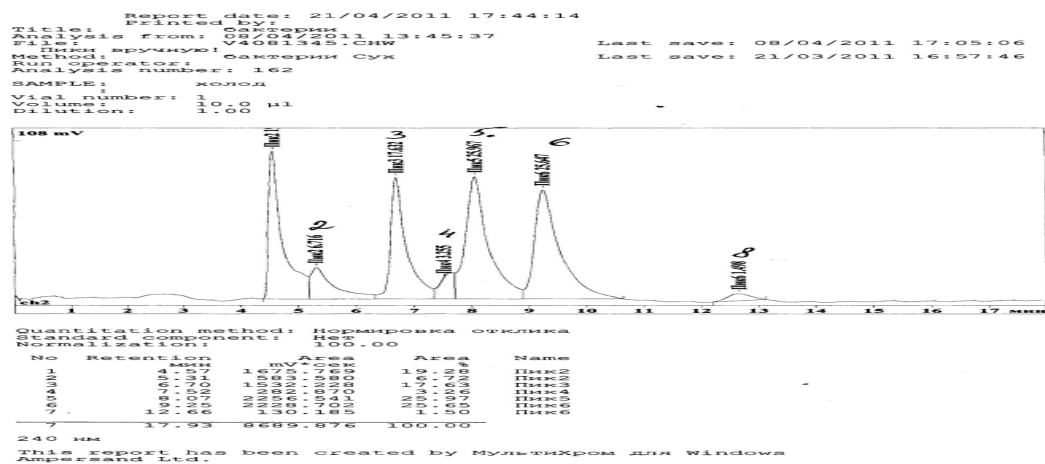


Рис. 6. Хроматографические фракции метаболитов *Bacillus* sp.

Для установления молекулярной структуры хроматографических пиков была проведена масс-хроматография (рис. 7).

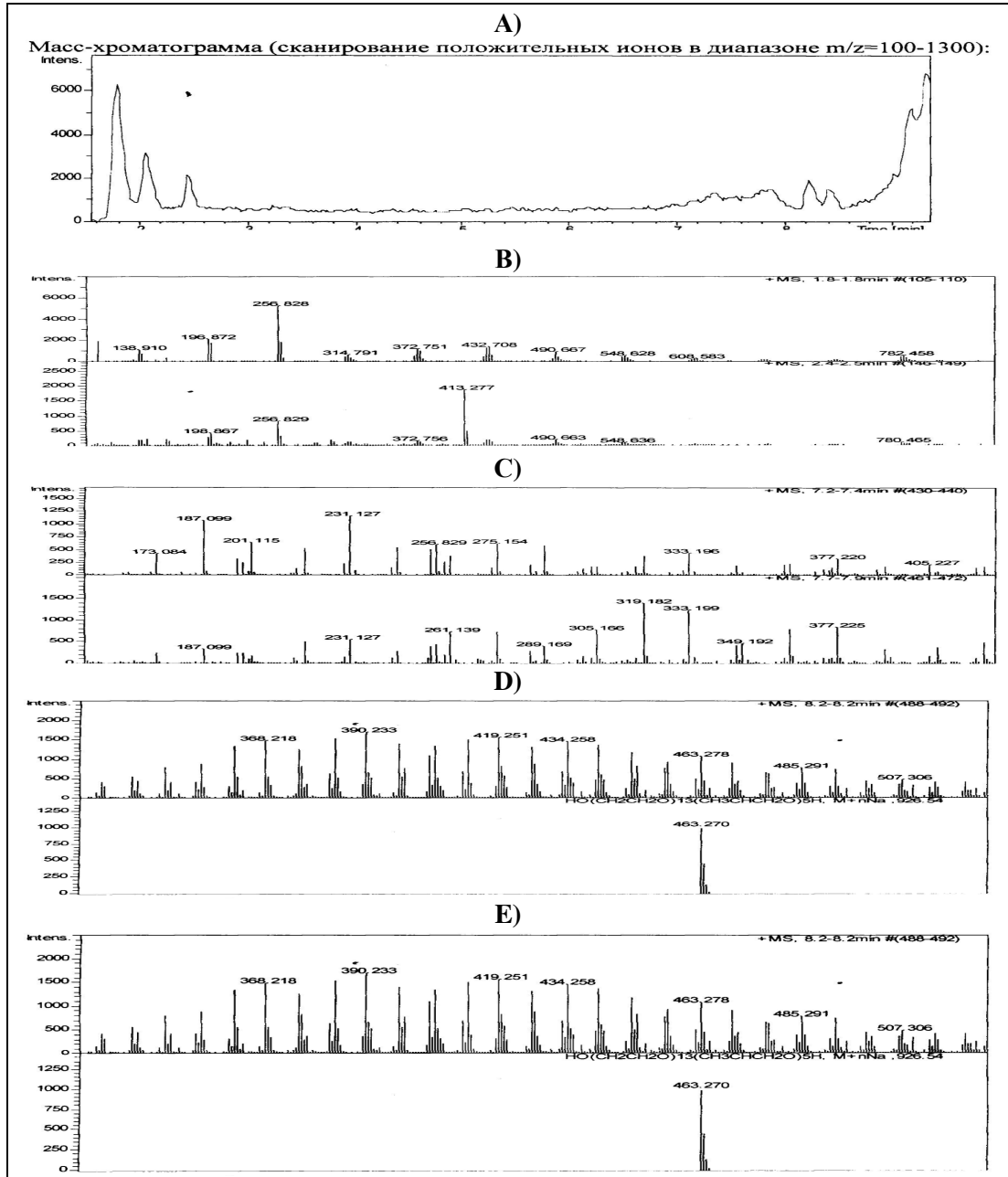


Рис. 7. Масс-хроматограмма продуктов метаболизма *Bacillus* sp.

Первый пик (рис. 7, А) обусловлен выходом NaCl (в виде ионов типа $\text{Na}(\text{NaCl})_n$). Во втором виден сложный набор ионов в диапазоне $m/z = 100-370$. В третьем явно виден однозарядный ион с $m/z = 413.27$.

Широкий пик на 7.2–8 мин (рис. 7В и 7С) обусловлен выходом неразделившейся смеси олигомеров полиэтилен-полипропиленгликолей общей брутто-формулы $\text{HO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n(\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH}_2\text{O}))_m\text{H}$, которые проявляются в виде аддуктов с натрием в диапазоне $m/z = 170\text{--}400$. Эффектный набор ионов в пике на 8,2 мин (рис. 7С) можно объяснить этой же брутто-формулой, но с учетом образования более длинными молекулами и двухзарядных ионов (аддукты с двумя катионами натрия). После 8-ой минуты (рис. 7 D и E) в хроматограмме выходят различные аминокислоты (в том числе лейцин, валин и т.п.), а на их фоне появляется ещё одна полимерная «гребёнка» двухзарядных ионов. Интервал масс в этой гребёнке соответствует группе $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$ ($44,026/2 = 22,013$), но это явно не простой полиэтиленгликоль (ПЭГ), так как набор ионов для ПЭГ в этом диапазоне имеет другие значения m/z (516,28 – 538,3 – 560,31 и т.д.). Наличие в этом наборе только двухзарядных ионов и заметно большие значения дефекта масс свидетельствуют, что здесь проявляется олигомер, имеющий в своей основе двухосновный алкалоид и нарастающую цепь из звеньев этиленгликоля. Молекулярный вес этих олигомеров от 900 до 1350 дальтон.

Известно, что в связи с особенностями внеклеточного метаболизма в состав молекул-эффекторов регуляции клеточного метаболизма в обязательном порядке входят ферменты МО. В данном исследовании (см. табл. 1) определена ферментативная активность арктического штамма МО после инкубации при разных температурных условиях – при $-16, -5, 5, 37$ и 42°C . Установлено, что минимальная ферментативная активность у штамма *Bacillus cereus* отмечается при температурах $-5, 5$ и 37°C , а максимальная – при -16 и 42°C .

Таблица 1
Ферментативная активность арктического штамма рода *Bacillus cereus* в зависимости от температурных условий инкубации

Температура, °C	-16	-5	5	37	42	+/-
Маннит	-	-	-	-	+	1/4
Глюкоза	+	+	+	-	+	4/1
Манноза	+	-	-	-	-	1/4
Сахароза	+	-	-	-	-	1/4
Арабиноза	-	-	-	-	+	1/4
Среда Симмонса	-	-	+	+	-	2/3
+/-	3/3	1/5	2/4	1/5	3/3	10/20

В экстремально пониженных температурах (-16°C) ферментативная активность палеоштамма МО повышается в отношении моносахаридов (глюкоза и манноза) и дисахаридов (сахароза), а при экстремально повышенных температурах (42°C) в отношении моносахаридов (арабиноза) и спиртов (маннит). При переходе к массивной криогенной текстуре микробные сообщества характеризуются ростом ферментативной каталазной активности до $94,4 \pm 5,4\%$, которая является универсальной антиоксидатной системой и обеспечивает водой и кислородом

микробные сообщества. Арктическая микробиота обладает достаточной сахаролитической, протеолитической, оксидазной активностью, что играет важную роль в защите МО от антибиотиков, содержащих D аминокислоты. Наличие уреазной активности у $3,6 \pm 2,5$ % микроорганизмов ММП играет важную роль в круговороте азота в естественных условиях и способствует повышению pH в окружающей среде. Эти данные свидетельствуют: во-первых, что ферментативная активность арктических палеобактерий определяется температурой окружающей среды; во-вторых, в экстремальных температурных условиях ферментативная активность их повышается.

4. ГЕНЫ, КОДИРУЮЩИЕ B-SMs

B-SMs производятся биосинтетическими генными кластерами (BGCs), которые представляют собой группу совместно расположенных генов, работающих вместе для создания молекулы [46]. BGCs в основном кодируют PKS и NRPS (синтез поликетидов и нерибосомальных пептидов соответственно), которые в дальнейшем совместно или независимо используются для борьбы с биотическим стрессом (как антибактериальные, противогрибковые и другие виды биоконтроля) путем кодирования производства антибиотиков, иммунодепрессантов и других противогрибковых агентов, как описано в таблице 2. Показаны разнообразные гены, кодирующие несколько B-SMs, которые проявляют активность по стимулированию роста растений и/или управлению стрессом растений.

Таблица 2

B-SMs с кодировками их генов и кластеров генов

Name of B-Sms	Name of bacteria	Molecular weight of B-Sms (KDa)	Gene Responsible for B-Sms production	Reference
Bacillaene	<i>B. subtilis</i> NCIB3610	742.9	pks gene	[48]
Bacillibactin	<i>B. subtilis</i>	882.79	dhbACEBF gene cluster	[49]
Bacillomycin D	<i>B. subtilis</i>	989.094	Bmy gene	[50]
Fengycin	<i>B. subtilis</i> F29-3	1,463.71	fenC	[51]
Plipastatin	<i>B. subtilis</i> YB8	1,463.70	degQ, pps, and lpa-8 genes	[52]
Surfactin	<i>B. subtilis</i> 168	1,036.30	sfp gene	[52]
Surfactin	<i>Bacillus</i> sp. SZMC 6179J	1,036.30	sfp gene	[53]
Pyoverdine	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	1365.424	pvd genes	[54]
Salicylic acid	<i>P. fluorescens</i> WCS374	138.12.	pmsCEAB Gene Cluster	[55]

В настоящее время, все еще очень многие важные проблемы общебиологического значения остаются нерешенными. И среди них важнейшими являются клеточная дифференцировка и регуляция активности генов. Мы до сих пор еще до конца не понимаем, как происходит нормальное развитие организма, как изначально клетки, имеющие исходно одинаковую генетическую информацию, в процессе развития идут своим собственным (разным) путем с точной и правильной реализацией в пространстве и времени особых областей генома в специфический фенотип. Как клетка решает, когда ей делиться и начать дифференцироваться? Как бы там ни было, именно эпигенетика позволяет по-новому взглянуть на эти проблемы и найти решение таких животрепещущих загадок биологии, как клеточная идентичность (специфичность), канцерогенез, пластичность и регенерация клеток. Об эпигенетике часто вспоминают, когда речь идет о влиянии внешней среды на экспрессию генов. Факторы среды могут оказывать заметное влияние на активность ферментов (и их кофакторов), осуществляющих модификации гистонов и ДНК.

Отдельной проблемой является доказательство функциональной активности микробиоты в природном местообитании. Метаболически активные компоненты микробных сообществ возможно выявить путем применения метагеномного анализа генов 16S рРНК. Таким образом, представляется актуальным исследование белков, перспективных как для идентификации и обнаружения арктических палеобактерий, их метаболической активности.

Термином «протеом» также обозначают набор белков субклеточного организма (бактериальный протеом). Протеом, особенно у эукариот, больше, чем геном. Это связано с альтернативным сплайсингом, а также с посттрансляционной модификацией белков, например, их гликозилированием и фосфорилированием. В то время как геном определяется последовательностью нуклеотидов, протеом не сводится к сумме последовательностей аминокислот. Протеом включает в себя также пространственные структуры всех содержащихся в нём белков и функционального взаимодействия между ними. В таблице 3 приведена характеристика бактериального протеома исследованных нами арктических палеобактерий в зависимости от глубинных их залегания и приведено уравнение тренда бактериального протеома.

Выявлено, что с увеличением глубины залегания происходит увеличение гипотетических белков ($y = 9,12x + 50,537$) с высоким коэффициентом аппроксимации ($R^2 = 0,9615$) и консервативных гипотетических белков ($y = 1,695x + 3,89$ при $R^2 = 0,2837$). При этом, уменьшается количество известных и неохарактеризованных белков ($y = -7,145x + 19,053$ при $R^2 = 0,75$ и $y = -4,51x + 19,17$ при $R^2 = 0,8912$ соответственно). Секвенирование нескольких геномов привело к многочисленным предсказанным открытым рамкам считывания, функции которых не могут быть легко описаны. Эти белки составляют от 20 % до 40 % белков, кодируемых в каждом вновь секвенированном геноме. В зависимости от глубины залегания МО, они обнаруживаются в $60,71 \pm 9,23$ % на глубине до 10 м, в $66,67 \pm 9,62$ % и $78,95 \pm 9,35$ % соответственно на глубине 10-20 м и более 20 м.

Таблица 3
Характеристика бактериального протеома в зависимости от глубинных их залегания

Белки	Глубина						Уравнение тренда
	≤ 10 метров		10-20 метров		≥ 20 метров		
	Название	Max ident %	Название	Max ident %	Название	Max ident, %	
Известные белки	Pseudomonas protegens Cab57	100	Нет данных		Нет данных		$y = -7,145x + 19,053$ $R^2 = 0,75$
	Pseudomonas putida H8234	100					
	Pseudomonas sp. StFLB209	100					
	Streptococcus agalactiae SS1219	95,2					
Гипотетические белки	GBS1173_1869 [Streptococcus agalactiae CF01173]	95,2	A8B94_11145 [Bordetella pertussis]	97,0	HMPREF9956_0184, partial [Staphylococcus epidermidis 14.1.R1.SE]	97,4	$y = 9,12x + 50,537$ $R^2 = 0,9615$
	HMPREF0018_00966 [Acinetobacter radioresistens SH164]	98,4	BN2127_JRS5_00115 [Bacillus amyloliquefaciens]	98,8	ESRG_04564, partial [Escherichia coli TA124]	100	
	HMPREF0016_03325 [Acinetobacter johnsonii SH046]	100	ESRG_04564, partial [Escherichia coli TA124]	100	SACIG1750_2966, partial [Staphylococcus aureus subsp. aureus CIG1750]	97,7	
	HMPREF0797_0042, partial [Staphylococcus epidermidis SK135]	97,3	A15Q_04546, partial [Escherichia coli KTE208]	100	SACIG2018_2620 [Staphylococcus aureus subsp. aureus CIG2018]	96,9	
	HMPREF9956_0184, partial [Staphylococcus epidermidis 14.1.R1.SE]	97,3	J8TS2_43150 [Lederbergia ruris]	95,2	SACIG149_2552, partial [Staphylococcus aureus subsp. aureus CIG149]	96,55	
	SACIG1750_2966, partial [Staphylococcus aureus subsp. aureus CIG1750]	96,8	AM233_11935 [Bacillus sp. FJAT-22058]	100	Newbould305_2752 [Staphylococcus aureus subsp. aureus str. Newbould 305]	96,63	

Продолжение таблицы 3

SACIG2018_2620 [Staphylococcus aureus subsp. aureus CIG2018]	96,9	hypothetical protein [Bacillus velezensis]	100	A15Q_04546, partial [Escherichia coli KTE208]	100
IIA_000166 [Pseudomonas fluorescens R124]	100	B7R53_16185 [Serratia marcescens]	98,5	T646_09235 [Staphylococcus aureus MRSN 8611]	97,3 7
J8TS2_43150 [Lederbergia ruris]	95,2	EAWG_05395, partial [Escherichia coli TA008]	100	B7R53_16185 [Serratia marcescens]	98,5 1
Lal_00011151 [Lupinus albus]	100	BMR85_025735 [Achromobacter sp. KAs 3-5]	100	EAWG_05395, partial [Escherichia coli TA008]	100
T646_09235 [Staphylococcus aureus MRSN 8611]	96,7	BSP2_43510 [Bacillus subtilis subsp. subtilis]	98,8	C5K27_02655 [Shigella flexneri]	97,8
XD38_0013 [Pseudomonas sp. 63_8]	96,9	BSP2_41070 [Bacillus subtilis subsp. subtilis]	98,8	DC030_14805, partial [Enterococcus faecalis]	97,6 7
hypothetical protein [Pseudomonas sp. S37]	100	C5K27_02655 [Shigella flexneri]	97,8	D0437_32530 [Bacillus cereus]	97,7 5
DC428_26470 [Priestia megaterium]	100	DC030_14805, partial [Enterococcus faecalis]	97,7	CRG96_26000 [Escherichia sp. E4930]	100
D0437_32530 [Bacillus cereus]	97,3	DC428_26470 [Priestia megaterium]	100	CRU79_25185 [Escherichia sp. E4385]	98,5 1
ALP29_01009 [Pseudomonas syringae pv. avii]	100	CRG96_26000 [Escherichia sp. E4930]	100	HMPREF0797_ 0042, partial [Staphylococcus epidermidis SK135]	97,3
CFBP4215_00697 [Pseudomonas syringae pv. syringae]	100	CRU79_25185 [Escherichia sp. E4385]	98,5		
PPRCHA0_0124 [Pseudomonas protegens CHA0]	100				

Продолжение таблицы 3

Консервативные гипотетические белки	Conserved hypothetical protein [Pseudomonas xanthomarina]	96,9	Conserved hypothetical protein [Pseudomonas xanthomarina]	96,9	conserved hypothetical protein [Staphylococcus aureus A9719]	96,88	$y = 1,695x + 3,89$ $R^2 = 0,2837$
	Conserved hypothetical protein [Staphylococcus hominis subsp. hominis C80]	97,3	Conserved hypothetical protein [Staphylococcus hominis subsp. hominis C80]	97,3	conserved hypothetical protein [Staphylococcus hominis subsp. hominis C80]	96,2	
Неохарактеризованные белки	ALO91_04145 [Pseudomonas syringae pv. aceris]	100	uncharacterized protein SAMD00023378_0001 [Ralstonia sp. NT80]	96,92	unnamed protein product, partial [Onchocerca ochengi]	100	$y = -4,51x + 19,17$ $R^2 = 0,8912$
	ALO56_04150, partial [Pseudomonas viridiflava]	100	Uncharacterised protein [Bacillus subtilis]	97,1			
	Uncharacterised protein [Streptococcus pneumoniae]	96,9	unnamed protein product, partial [Onchocerca ochengi]	100			
	Unnamed protein product, partial [Onchocerca ochengi]	100					
Прочие белки	Нет данных		ORF16-lacZ fusion protein [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis str. SC-B67]	97,8	identified by metageneannotator [Pragia fontium]	98,41	$y = 2,63x + 2,0467$ $R^2 = 0,0954$
			putative oRF16-lacZ fusion protein [Bacillus licheniformis]	97,6			
			identified by metageneannotator [Pragia fontium]	98,4			
			16S ribosomal RNA [Cupriavidus taiwanensis]	95,4			

Даже когда имеется достаточно доказательств того, что продукт гена экспрессируется с помощью таких методов, как микроматрица и масс-спектрометрия, трудно назначить ему функцию, учитывая его отсутствие

идентичности с последовательностями белков с аннотированной биохимической функцией. Функцию гипотетического белка можно предсказать путем поиска гомологии доменов с различными уровнями достоверности.

В гипотетических белках доступны консервативные домены, которые необходимо сравнить с доменами известных семейств, по которым гипотетический протеин может быть отнесен к определенным семействам протеинов, даже если они не были исследованы *in vivo*. Функцию гипотетического белка можно также спрогнозировать с помощью моделирования гомологии его с известной последовательностью белка, трехмерная структура которой известна. Прогнозирование структуры с оценкой биохимической функции путем скрининга различных субстратов – еще один многообещающий подход к аннотированию функции.

«Консервированные гипотетические» белки в зависимости от глубины залегания арктические палеобактерии обнаруживаются в $7,14 \pm 4,87$ % на глубине до 10 м, в $4,17 \pm 4,08$ % и $10,53 \pm 7,04$ % соответственно на глубине 10–20 м и более 20 м представляют собой проблему не только для функциональной геномики, но и для биологии в целом.

Пока существуют сотни консервативных белков с неизвестной функцией в модельных организмах, таких как *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* или *Saccharomyces cerevisiae*, любое обсуждение «полного» понимания этих биологических систем останется желаемым. Подходы *In silico* демонстрируют большие перспективы в отношении попыток, которые позволят оценить роль этих гипотетических белков. Среди большинства геномных белков две трети у одноклеточных организмов и более 80 % у многоклеточных являются многодоменными белками, созданными в результате событий дубликации генов. Характеристика гипотетических последовательностей может помочь в лучшем понимании этих микробных систем. Таким образом, это исследование многодоменных гипотетических белков может оказаться решающим с двух сторон, а именно, для понимания механизма поглощения питательных веществ, содержащих ароматические кольцевые структуры, и, следовательно, для обеспечения возможности синтеза этих белков для эффективной деградации вредных ксенобиотиков.

Рассмотрены некоторые гены, кодирующие выбранные B-SM, осуществляющие биоконтроль и/или регуляцию роста растений. Так ACC (1-аминоциклопропан-1-карбоновая кислота) – это небелковая аминокислота, которая является основной молекулой биосинтеза этилена и выступает в качестве метаболита-предшественника для производства этилена [56]. В то время как этилен является основным гормоном растений, который регулирует широкий спектр вегетативных и эволюционных процессов. Стимуляция этого ACC кодируется геном *AcdS*. ACC-деаминаза (1-аминоциклопропан-1-карбоксилат деаминаза) является индуктивным ферментом, и ее действие активируется в присутствии ее субстрата ACC [22]. Экспрессия этого гена *AcdS* регулируется белками LRP и другими регуляторными генами, такими как *AcdB* и *LysR*, в аэробных и анаэробных условиях [57].

Ген *ipdC* отвечает за регуляцию производства IAA (индолуксусной кислоты) у бактерий по пути, известному как *IPyA*. Ген *ipdC* регулирует один из наиболее значимых растительных гормонов класса ауксинов. IAA является производным индола, имеющим карбоксиметильный заместитель. Это важный фитогормон, регулирующий рост и экспансию, т.е. деление клеток, удлинение, реакцию и т.д., при этом корни растений наиболее чувствительны к изменениям уровня IAA.

Сидерофоры – это ион-хелатирующие малые молекулы, производимые микробами, чаще всего бактериями, которые помогают организмам накапливать железо. Для биосинтеза сидерофоров необходимы три гена, которые обозначаются как *asbD* (кодирующий многодоменную нерибосомальную пептидную синтетазу), *asbC* (кодирующий предсказанную гистаминовую монооксигеназу) и *asbG* (кодирующий гистидиндекарбоксилазу). Следовательно, эти три белка вместе обеспечивают поглощение железа в условиях дефицита железа [58]. Однако, наряду с этими, существует множество метаболитов, работающих в борьбе со стрессом растений, но их гены и пути все еще находятся в стадии исследования.

5. ПРИМЕНЕНИЕ B-SMs В УПРАВЛЕНИИ БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОМ

Уменьшающаяся рыхлость почвы и недостаточное производство сельскохозяйственных культур вызвали серьезные опасения по поводу безопасности питательных веществ для постоянно увеличивающегося населения [59]. Растущая устойчивость микробов к антибиотикам превратилась в серьезную глобальную проблему. Для борьбы с инфекциями, вызванными патогенами, обладающими множественной лекарственной устойчивостью, включая грибы, бактерии, вирусы и водоросли [20], необходимы терапевтические средства на основе инновационных биохимических платформ и/или механизмов действия, и для преодоления этого спроса на натуральные продукты питания для здорового образа жизни B-SMs оказались отличным источником для улучшения здоровья растений путем обеспечения различных полезных действий, таких как противогрибковые [60], противовирусные [61–65], антибактериальные [66–68], ведицидные [69], инсектицидные [70, 71], регулируют рост растений [14, 72–78] и обладают иммуномодулирующей активностью [10, 79–84].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В этом обзоре мы сосредоточились на биотическом стрессе, ответственном за многочисленные болезни растений, которые можно контролировать с помощью определенных арктических палеобактерий и их B-SMs, которые провоцируют защиту растений и средства биоконтроля, с их предстоящим использованием в более устойчивом сельском хозяйстве. Новая эра открытий B-SMs арктических палеобактерий представляют интерес как с точки зрения их биотехнологических и экологических качеств, так и с точки зрения их перспективности, направленной на практику в медицине и биотехнологии. Химические соединения природных B-SMs более сложны, так как содержат множество вращающихся связей, стереоцентров, акцепторов и доноров протонов. Оптимизация конкретного метаболита в рабочую форму является дорогостоящей и длительной из-за его токсикологических и

клинических испытаний. Несмотря на эти усилия, лишь ничтожная часть современного разнообразия B-SMs была изучена или подвергнута биоанализу. Чтобы преодолеть эту уязвимость, использование комбинированного метода исследования, включающий как традиционный способ лабораторного выделения, так и новаторский подход с использованием инструментов протеомики в сочетании с биоинформатикой, может стать ключом к поиску новых биологически активных соединений.

Возникает закономерный вопрос: почему именно в дисперсных обводненных породах, перешедших в мерзлое состояние, высока концентрация МО (более 30 % протестированных нами), способных повышать адаптационный потенциал представителей современных экосистем? МО поверхностных слоев почвы Арктики в большей степени испытывают экологическую нагрузку, в том числе температурную (от +25 °С до –60 °С). Объяснение этому мы видим в следующем: подавляющая часть МО почвы – это деструкторы с высокой скоростью метаболизма, способные разлагать вещества, накапливать химические элементы и вовлекать их в новые геохимические циклы. Для мерзлых пород помимо стабильно отрицательных температур характерны значимое ограничение питательных веществ и свободной воды, относительная изолированность колоний МО, особый физико-химический режим, повышенный радиационный фон и многие другие особенности. В данных условиях селекция МО могла идти по пути сохранения видов с оригинальными механизмами репарации поврежденных структур, обмена энергией и генетической информацией. Известно, что скорость эволюции прямо отражает эффективность и ошибочность процессов репарации поврежденных структур. Логично предположить, что реликтовые МО в экосистемах криолитозоны, прошедшие жесткий эволюционный отбор, обладают особыми механизмами репарации, которые можно перенести на современные живые системы.

Ведь репарация имеет общебиологическое значение, где совокупность процессов, посредством которых клетка идентифицирует и исправляет повреждения молекул ДНК, кодирующих ее геном, универсальны, с помощью одних и тех же механизмов устраняются повреждения различной природы. Подобная система резервирования в подземных кладовых микробиоты «вечного» возраста в миллионы, а возможно, и десятки миллионов лет (!) на протяжении древних и современных геологических эпох необходима для сохранения жизни даже после крупнейших катастроф планетарного масштаба.

Археологические исследования показывают, что ледниковые эпохи и межледниковья – периоды резкого и масштабного изменения биоты. Пульсирующая эволюция способствует селекции видов организмов с оригинальной сопротивляемостью переменам в очень широком масштабе параметров условий окружающей среды. Смена ледниковых и межледниковых периодов с избытками тепла или холода могла модулировать жизненно важные факторы живых существ, определяя их современный образ. В этой связи может возникнуть новое направление исследований сообществ микроорганизмов, их свойств, условий возникновения, биологической активности и других особенностей в зависимости от местообитания в холодных регионах планеты (глубина залегания, широта и

долгота). То есть речь идет о нордическом детерминизме (как части географического) в бактериальном микромире.

При этом криолитозону можно рассматривать как природную кладовую эволюционно ценных форм жизни, а палеобактерии – как бесценный биологический ресурс Арктики и носителей оригинальной генетической информации.

Список литературы

1. Blaud A. Arctic soil microbial diversity in a changing world / A. Blaud, T.Z. Lerch, G.K. Phoenix, A. M. Osborn // *Res Microbiol.* – 2015. – Vol. 166, No 10. – P. 796–813.
2. Wilhelm R. C. Microbial diversity of active layer and permafrost in an acidic wetland from the Canadian High Arctic / R. C. Wilhelm, T. D. Niederberger, C. Greer, L. G. Whyte // *Can. J. Microbiol.* – 2011. – Vol. 7, No 4. – P. 303–315.
3. Мельников В. П. Распределение микроорганизмов в мерзлых грунтах / В. П. Мельников, В. В. Рогов, А. Н. Курчатова [и др.] // *Криосфера Земли.* – 2011. – Т. 15, № 4. – С. 86–90.
4. Доманская О. В. Некоторые особенности ферментативной активности различных штаммов рода *Bacillus*, выделенных из мерзлых отложений / О. В. Доманская, В. П. Мельников, Л. В. Огурцова [и др.] // *Криосфера Земли.* – 2017. – Т. 21, № 5. – С. 63–71.
5. Едидин Г. М. Филогенетический анализ микроорганизмов из мерзлых грунтов / Г. М. Едидин, А. В. Брушков, С. Г. Игнатов // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 4. Геология.* – 2016. – Т. 4, № 5. – С. 92–95.
6. Шатилович А. В. Жизнеспособные простейшие в вечной мерзлоте Арктики / А. В. Шатилович, Л. А. Шмакова, С. В. Губин, Д. А. Гиличинский // *Криосфера Земли.* – 2010. – Т. 14, № 2. – С. 69–78.
7. Brouchkov A. Permafrost Bacteria in Biotechnology: Biomedical Applications / A. Brouchkov, V. Melnikov, L. Kalenova [et al.] // *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology* / R. Margesin (ed.). [S. l.]: Springer, 2017. – P. 541–555.
8. Bérdy J. Bioactive microbial metabolites / Bérdy J. // *J. Antibiot.* – 2005. – Vol. 58, No 1. – P. 1–26.
9. Pathma J. Secondary metabolite production by bacterial antagonists / J. Pathma, G. Rahul, K.R. Kamaraj [et al.] // *J. Biol. Control.* – 2011. – Vol. 25, No 3. – P. 165–181.
10. Vaishnav P. Unexpected applications of secondary metabolites / P. Vaishnav, A. L. Demain // *Biotechnol. Adv.* – 2011. – Vol. 29, No 2. – P. 223–229.
11. Keswani C. Auxins of microbial origin and their use in agriculture / C. Keswani, S. P. Singh, L. Cueto [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2020. – Vol. 104, No 20. – P. 8549–8565.
12. Khan M. T. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants / M. T. Khan, F. Mohammad // *Biol. Med.* – 2011. – Vol. 3, No 2. – P. 232–249.
13. Keswani C. Formulation technology of biocontrol agents: Present status and future prospects / C. Keswani, K. Bisen, V. Singh [et al.] // *Bioformul. Sustain. Agric.* – 2016. – P. 35–52.
14. Ruparelia R. J. Articulating beneficial rhizobacteria mediated plant defenses through induced systemic resistance / R. J. Ruparelia, C. K. Jha, R. Z. Sayyed // *Pedosphere.* – 2022.
15. Keswani C. Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important bacteria as next-generation pesticides / C. Keswani, H. B. Singh, C. García-Estrada. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 104, No 3. – P. 1013–1034.
16. Keswani C. Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important fungi as next biocontrol agents / C. Keswani, H. B. Singh, R. Hermosa [et al.] // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 103, No 23. – P. 9287–9303.
17. Sansinenea E. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. / E. Sansinenea, A. Ortiz // *Biotechnol. Lett.* – 2011. – Vol. 33, No 8. – P. 1523–1538.
18. Saritha M. B. Sierra Arbuscular mycorrhizal fungal association boosted the arsenic resistance in crops with special responsiveness to rice plant / M. B. Saritha, E. Janeeshma, P. Gusain [et al.] // *Environ. Exp. Bot.* – 2022. – Vol. 193. – Article 104681.
19. Sansinenea E. *Bacillus* spp.: as plant growth-promoting bacteria / Sansinenea E. // *Second. Metab. Plant Growth Promot. Rhizomicroorg. Discov.* – 2019. – Appl., 225–237.

20. Jakubiec-Krzesniak K. Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties / K. Jakubiec-Krzesniak, A. Rajnisz-Mateusiak, A. Guspil [et al.] // *Pol. J. Microbiol.* – 2018. – Vol. 67, No 3. – P. 259–272.
21. Chater K. F. Recent advances in understanding *Streptomyces* / Chater K. F. // *Research.* – 2016. – Vol. 5.
22. Singh R.P. Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants / R. P. Singh, G. M. Shelke, A. Kumar, P. N. Jha // *Front. Microbiol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 937.
23. Apridiana I. The culture medium optimization of *Serratia plymuthica* UBCF_13 to produce antifungal compounds / I. Apridiana, S. Aisyah, M. Oktavioni [et al.] // *Proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* – 2021. – Vol. 741. – 012062.
24. Ruparelia J. Isolation methods for evaluation of extremophilic microbial diversity from antarctica region / J. Ruparelia, A. Rabari, N. Joshi, C. K. Jha // *Microb. Divers. Hotspots.* – 2022. – P. 267–289.
25. Salla T.D. *Streptomyces* rhizobacteria modulate the secondary metabolism of Eucalyptus plants / T. D. Salla, T. R. Silva, L. V. Astarita, E. R. Santarém // *Plant Physiol. Biochem.* – 2014. – Vol. 85. – P. 14–20.
26. Aggarwal N. Sharma Role of secondary metabolites of actinomycetes in crop protection / N. Aggarwal, S. Thind // *Plant Growth Promoting Actinobacteria*, Springer, 2016. – P. 99–121.
27. Velázquez-Becerra C. The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound that inhibits growth of phytopathogenic fungi in vitro / C. Velázquez-Becerra, L. I. Macías-Rodríguez, J. López-Bucio [et al.] // *Protoplasma.* – 2013. – Vol. 250, No 6. – P. 1251–1262.
28. Abdallah R. A. B. Isolation of endophytic bacteria from *Withania somnifera* and assessment of their ability to suppress *Fusarium* wilt disease in tomato and to promote plant growth / R. A. B. Abdallah, B. Mejdoub-Trabelsi, A. Nefzi [et al.] // *J. Plant Pathol. Microbiol.* – 2016. – Vol. 7, No 5.
29. Torres M. J. Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds / M. J. Torres, C. P. Brandan, G. Petroselli [et al.] // *Microbiol. Res.* – 2016. – Vol. 182. – P. 31–39.
30. Mahmoud O. M. B. Auxin and proline producing rhizobacteria mitigate salt-induced growth inhibition of barley plants by enhancing water and nutrient status / O. M. B. Mahmoud, R. Hidri, O. Talbi-Zribi [et al.] // *S. Afr. J. Bot.* – 2020. – Vol. 128. – P. 209–217.
31. Hong B. Influence of salinity variations on exocellular polysaccharide production, biofilm formation and flocculation in halotolerant bacteria / B. Hong, M. Joe, G. Selvakumar [et al.] // *J. Environ. Biol.* – 2017. – Vol. 38, No 4. – P. 657.
32. Karnwal Screening of plant growth-promoting rhizobacteria from maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum*) // *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.* – 2012. – Vol. 12, No 3. – P. 6170–6185.
33. Li H. Control of tomato yellow leaf curl virus disease by *Enterobacter asburiae* BQ9 as a result of priming plant resistance in tomatoes / H. Li, X. Ding, C. Wang [et al.] // *Turk. J. Biol.* – 2016. – Vol. 40, No 1. – P. 150–159.
34. Bharti N. Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis* / N. Bharti, D. Barnawal, A. Awasthi [et al.] // *Acta Physiol. Plant.* – 2014. – Vol. 36, No 1. – P. 45–60.
35. Qurashi A.W. Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and soil aggregation under salt stress / A. W. Qurashi, A. N. Sabri // *Braz. J. Microbiol.* – 2012. – Vol. 43. – P. 1183–1191.
36. Velmurugan S. Screening and characterization of antimicrobial secondary metabolites from *Halomonas salifodinae* MPM-TC and its in vivo antiviral influence on Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* against WSSV challenge / S. Velmurugan, K. Raman, V. T. Viji [et al.] // *J. King Saud Univ. Sci.* – 2013. – Vol. 25, No 3. – P. 181–190.
37. Marasco R. *Salicornia strobilacea* (synonym of *Halocnemum strobilaceum*) grown under different tidal regimes selects rhizosphere bacteria capable of promoting plant growth / R. Marasco, F. Mapelli, E. Rolli [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2016. – Vol. 7. – P. 1286.
38. Orhan F. Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*) / Orhan F. // *Braz. J. Microbiol.* – 2016. – Vol. 47. – P. 621–627.

39. Orozco-Mosqueda M. The production of ACC deaminase and trehalose by the plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4 synergistically protect tomato plants against salt stress / M. Orozco-Mosqueda, J. Duan, M. DiBernardo [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 1392.
40. Tewari S. Role of salicylic acid from *Pseudomonas aeruginosa* PF23 EPS+ in growth promotion of sunflower in saline soils infested with phytopathogen *Macrophomina phaseolina* / S. Tewari, N. K. Arora // *Environ. Sustain.* – 2018. – Vol. 1, No 1. – P. 49–59.
41. Alijani Z. Antifungal activity of serratia rubidaea Mar61-01 purified prodigiosin against colletotrichum nymphaeae, the causal agent of strawberry anthracnose / Z. Alijani, J. Amini, M. Ashengroph, B. Bahramnejad // *J. Plant Growth Regul.* – 2021.
42. Kamou N. N. Investigating the compatibility of the biocontrol agent *Clonostachys rosea* IK726 with prodigiosin-producing *Serratia rubidaea* S55 and phenazine-producing *Pseudomonas chlororaphis* ToZa7 / N. N. Kamou, M. Dubey, G. Tzelepis [et al.] // *Arch. Microbiol.* – 2016. – Vol. 198, No 4. – P. 369–377.
43. Jaddoa H. H. Mohammed Analysis of volatile metabolites released by *Staphylococcus aureus* using gas chromatography-Mass spectrometry and determination of its antifungal activity Orient / H. H. Jaddoa, I. H. Hameed // *J. Chem.* – 2016. – Vol. 32, No 4. – P. 8–24.
44. Popp P. F. Coordinated Cell Death in Isogenic Bacterial Populations: Sacrificing Some for the Benefit of Many? / P. F. Popp, T. Mascher // *Journal of Molecular Biolog.* – 2019. – Vol. 431, No 23. – P. 4656–4669.
45. Newman D. J. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014 / D. J. Newman, G. M. Cragg // *J. Nat. Prod.* – 2016. – Vol. 79, No 3. – P. 629–661.
46. Sharrar A. M. Bacterial secondary metabolite biosynthetic potential in soil varies with phylum, depth, and vegetation type / A. M. Sharrar, A. Crits-Christoph, R. Méheust [et al.] // *mBio.* – 2020. – Vol. 11, No 3. – e00416-e00420.
47. Müller S. Bacillaene and Sporulation Protect *Bacillus Subtilis* from Predation by *Mycococcus Xanthus* / S. Müller, S. N. Strack, B. C. Hoeffler [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2014. – Vol. 80, No 18. – P. 5603.
48. Смирнова Т. А. Электронномикроскопическое исследование поверхности спор бацилл / Т. А. Смирнова, М. В. Зубашева, Н. В. Шевлягина [и др.] // *Микробиология.* – 2013. – Том 82, № 6. – С. 698–706.
49. May J. J. The Dhb operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2,3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester bacillibactin / J. J. May, T. M. Wendrich, M. A. Marahiel // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276, No 10. – P. 7209–7217.
50. Koumoutsi A. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42 / A. Koumoutsi, X. H. Chen, A. Henne [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2004. – Vol. 186, No 4. – P. 1084–1096.
51. Lin T. P. Functional and transcriptional analyses of a fengycin synthetase gene, FenC, from *Bacillus subtilis* / T. P. Lin, C. L. Chen, LiK Chang [et al.] // *J. Bacteriol.* – 1999. – Vol. 181, No 16. – P. 5060.
52. Tsuge K. The genes DegQ, Pps, and Lpa-8 (Sfp) are responsible for conversion of *Bacillus subtilis* 168 to plipastatin production / K. Tsuge, T. Ano, M. Hirai [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1999. – Vol. 43, No 9. – P. 2183–2192.
53. Bóka B. Genome analysis of a *Bacillus subtilis* strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties / B. Bóka, L. Manczinger, S. Kocsubé [et al.] // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 35, No 3. – P. 1–14.
54. Lamont I. L. Identification and characterization of novel pyoverdine synthesis genes in *Pseudomonas aeruginosa* / I. L. Lamont, L. W. Martin // *Microbiology.* 2003. – Vol. 149, No 4. – P. 833–842.
55. Mercado-Blanco J. Analysis of the PmsCEAB Gene Cluster involved in biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* WCS374 / J. Mercado-Blanco, K. M. G. M. Drift, P. E. Olsson [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2001. – Vol. 183, No 6. – P. 1909–1920.
56. DeLong J. P. Shifts in metabolic scaling, production, and efficiency across major evolutionary transitions of life / J. P. DeLong, J. G. Okie, M. E. Moses [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2010. – Vol. 107. – P. 12941–12945.
57. Khan M. Y. Preliminary investigations on selection of synergistic halotolerant plant growth promoting rhizobacteria for inducing salinity tolerance in wheat / M. Y. Khan, Z. A. Zahir, H. N. Asghar, E. A. Waraich // *Pak. J. Bot.* – 2017. – Vol. 49, No 4. – P. 1541–1551.

58. Najimi M. Identification of siderophore biosynthesis genes essential for growth of *Aeromonas salmonicida* under iron limitation conditions / M. Najimi, M. L. Lemos, C. R. Osorio // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – Vol. 74, No 8. – P. 2341–2348.
59. Sunita K. Secondary metabolites from halotolerant plant growth promoting rhizobacteria for ameliorating salinity stress in plants / K. Sunita, I. Mishra, J. Mishra [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 2619.
60. Demain A. L. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms / Demain A. L. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 1999. – Vol. 52, No 4. – P. 455–463.
61. Raveh A. Discovery of potent broad spectrum antivirals derived from marine actinobacteria / A. Raveh, P. C. Delekta, C. J. Dobry [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, No 12. – e82318.
62. Chakraborty M. Natural protein kinase inhibitors, staurosporine, and chelerythrine suppress wheat blast disease caused by *magnaporthe oryzae triticum* / M. Chakraborty, S. M. Fajle Rabby, D. R. Gupta [et al.] // *Microorganisms.* – 2022. – Vol. 10, No 6. – Article 1186.
63. Ruparelia J. Screening and optimization for cellulase production by soil bacterial isolates JRC1 and JRC2 / J. Ruparelia, M. Saraf, C. K. Jha // *BBRC.* – 2020. – Vol. 13. – P. 159–164.
64. Corato U. Antifungal activity of crude extracts from brown and red seaweeds by a supercritical carbon dioxide technique against fruit postharvest fungal diseases / U. Corato, R. Salimbeni, A. Pretis [et al.] // *Postharvest Biol. Technol.* – 2017. – Vol. 131. – P. 16–30.
65. Corato U. Antifungal activity of liquid waste obtained from the detoxification of steam-exploded plant biomass against plant pathogenic fungi, / U. Corato, E. Viola, G. Arcieri [et al.] // *Crop Prot.* – 2014. Vol. 55. – P. 109–118.
66. Lazzarini A. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics / A. Lazzarini, L. Cavaletti, G. Toppo, F. Marinelli // *Antonie Van Leeuwenhoek.* – 2000. – Vol. 78, No 3. – P. 399–405.
67. Parekh S. Improvement of microbial strains and fermentation processes / S. Parekh, V. Vinci, R. Strobel // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2000. – Vol. 54, No 3. – P. 287–301.
68. Pinchuk I. V. In vitro anti-*Helicobacter pylori* activity of the probiotic strain *Bacillus subtilis* 3 is due to secretion of antibiotics / I. V. Pinchuk, P. Bressollier, B. Verneuil [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2001. – Vol. 45, No 11. – P. 3156–3161.
69. Lawrance S. Quinoline derivatives producing *Pseudomonas aeruginosa* H6 as an efficient bioherbicide for weed management / S. Lawrance, S. Varghese, E. M. Varghese, A. K. Asok // *Biocatal. Agric. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 18. – Article 101096.
70. Liu X. Thuringiensin: a thermostable secondary metabolite from *Bacillus thuringiensis* with insecticidal activity against a wide range of insects / X. Liu, L. Ruan, D. Peng [et al.] // *Toxins.* – 2014. – Vol. 6, No 8. – P. 2229–2238.
71. Espinasse S. Correspondence of high levels of beta-exotoxin I and the presence of cry1B in *Bacillus thuringiensis* / S. Espinasse, M. Gohar, J. Chaufaux [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2002. – Vol. 68, No 9. – P. 4182–4186.
72. Ruparelia J. Reconnoitring natural antibacterial appraisal of medicinal plants extract against human pathogen *salmonella paratyphi a* and *salmonella paratyphi B* / J. Ruparelia, A. Rabari, N. Joshi [et al.] // *Chem. Biomol. Eng.* – 2021. – Vol. 6, No 2. – P. 30–36.
73. Пат. 2722670 С1 Российская Федерация Средство стимуляции роста меристемной культуры *Solanum tuberosum* / Н. О. Ренёв, А. М. Субботин, С. А. Петров, В. А. Мальчевский – № 2019134349; заявл. 25.10.2019; опубл. 02.06.2020; Бюл. № 16.
74. Пат. 2724538 С1 Российская Федерация Средство для стимуляции роста меристемной культуры *Solanum tuberosum* / Н. О. Ренёв, А. М. Субботин, С. А. Петров, В. А. Мальчевский – № 2019134348; заявл. 25.10.2019; опубл. 23.06.2020; Бюл. № 18.
75. Пат. 2732627 С1 Российская Федерация Средство для повышения холодоустойчивости и продуктивности растений / С. А. Петров, А. М. Субботин, В. Н. Тимофеев, М. В. Нарушко – № 2019132572; заявл. 14.10.2019; опубл. 21.09.2020; Бюл. № 27. – 6 с.
76. Касторнов А. А. Влияние микроорганизмов палеоэкосистем на цитогенетический аппарат *Allium* сера / А. А. Касторнов, С. А. Петров, А. М. Субботин, В. А. Мальчевский // *Вестник Северо-Восточного Федерального университета имени М. К. Аммосова Серия «Медицинские науки»* – 2021. – № 3 (24). – С. 5–8.

77. Kastornov A. A. The influence of microorganisms of the Arctic paleoecosystems on the morphometric parameters and the cytogenetic apparatus of *Allium cepa* / A. A. Kastornov, A. M. Subbotin, S. A. Petrov // BIO Web of Conferences. – 2022. – Vol. 43. – 3013.
78. Касторнов А. А. Влияние микроорганизмов рода *Bacillus* из многолетнемерзлых пород на показатели зеленой части лука *Allium cepa* / А. А. Касторнов, С. А. Петров, А. М. Субботин // Мир инноваций. – 2023. – №2. – С. 22–29.
79. Darshan N. Prodigiosin and its potential applications / N. Darshan, H. K. Manonmani // J. Food Sci. Technol. – 2015. – Vol. 52, No 9. – P. 5393–5407.
80. Petrov S. A. Influence of the Microbiota of the Cryolithozone Paleoecosystems on the Behavioral Functions of the Nervous System of Chickens *Gallus gallus* / S. A. Petrov, A. M. Subbotin, A. S. Bazhin, M. V. Narushko // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2021. – Vol. 171. No 2. – P. 234–237.
81. Kalenova L. F. Reparative and immunomodulatory potential of low-molecular-weight fraction of secondary metabolites of *Bacillus* sp. / L. F. Kalenova, S. A. Petrov, Y. G. Sukhovei // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2022. – Vol. 172, No 3. – P. 332–335.
82. Kalenova L. F. Influence of Paleobacteria on the Proliferative Activity of Human Lymphocytes In Vitro / L. F. Kalenova, S. A. Petrov, A. M. Subbotin [et al.] // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2023. – Vol. 174, No 6. – P. 758–761.
83. Петров С. А. Влияние микроорганизмов многолетнемерзлых пород на дифференцировку моноцитов *in vitro* / С. А. Петров, Ю. Г. Суховой, Л. Ф. Калёнова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2023. – Т. 175, № 3. – С. 345–349.
84. Каленова Л. Ф. Дозозависимое влияние метаболитов микроорганизмов *Bacillus Sp.* из многолетнемерзлых пород на дифференцировку лимфоцитов в тимусе / Л. Ф. Каленова, С. А. Петров, А. С. Бажин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 169, № 1. – С. 74–77.

SECONDARY METABOLITES OF ARCTIC PALEOBACTERIA: MOLECULAR GENETIC ASPECTS, ECOLOGY AND EVOLUTION. REVIEW

Petrov S. A., Malchevsky V. A., Subbotin A. M., Sukhovey Yu. G.

Tyumen Scientific Center SB RAS, Tyumen, Russia
E-mail: tumiki@yandex.ru

In this review, we have focused on Arctic paleobacteria and their bacterial secondary metabolites (B-SMs), which are low molecular weight (<2.5 kDa) compounds that are produced by bacteria but are not directly involved in life or replication. The new era of discoveries of Arctic paleobacteria B-SMs is of interest both in terms of their biotechnological and ecological qualities, and in terms of their prospects for medical and biotechnological practice. The chemical compounds of natural B-SMs are quite complex. Optimization of specific B-SMs into a working form is costly and time consuming due to its toxicological and clinical testing. Therefore, only an insignificant part of them has been studied and subjected to bioanalysis. To overcome this vulnerability, a combined approach, including both the traditional laboratory isolation method and an innovative approach using proteomics tools combined with bioinformatics, may be the key to the search for new biologically active compounds. A natural question arises: why is it precisely in permafrost that the concentration of MOs is high (more than 30 % of those tested by us), which can increase the adaptive potential of representatives of modern

ecosystems? The MOs of the surface layers of the soil in the Arctic are more affected by environmental stress, including temperature (from +25 °C to –60 °C). We see the following explanation for this: the vast majority of soil MOs are decomposers with a high metabolic rate, capable of decomposing substances, accumulating chemical elements and involving them in new geochemical cycles. In addition to stable negative temperatures, frozen rocks are characterized by a significant limitation of nutrients and free water, the relative isolation of MO colonies, a special physical and chemical regime, an increased radiation background, and many other features. Under these conditions, the selection of MOs follows the path of preserving species with original mechanisms for repairing damaged structures, exchanging energy and genetic information. It is logical to assume that relict MOs in permafrost ecosystems that have undergone rigorous evolutionary selection have special repair mechanisms that can be used to accelerate repair processes in modern living systems. The reservation system in the underground pantries of microbiota of “eternal” age of millions, and possibly tens of millions of years (!) during ancient and modern geological epochs is necessary to preserve life even after the largest catastrophes on a planetary scale. In this regard, a new direction of research into MO communities, their B-SMs, conditions of occurrence, biological activity, and other features depending on the habitat in the cold regions of the planet (depth, latitude, and longitude) may arise. That is, we are talking about Nordic determinism (as part of the geographical) in the bacterial microcosm. Thus, the cryolithozone can be considered as a natural storehouse of evolutionarily valuable life forms, and paleobacteria as an invaluable biological resource of the Arctic and carriers of original genetic information.

Keywords: bacterial secondary metabolites (B-SMs), arctic paleobacteria, plant disease stress management, biocontrol, plant health, PGPR, phytopathogens.

References

1. Blaud A., Lerch T.Z., Phoenix G.K. and Osborn A.M., Arctic soil microbial diversity in a changing world, *Res Microbiol.* **166(10)**, 796 (2015).
2. Wilhelm R.C., Niederberger T.D., Greer C. and Whyte L.G., Microbial diversity of active layer and permafrost in an acidic wetland from the Canadian High Arctic, *Can. J. Microbiol.*, **57(4)**, 303 (2011).
3. Melnikov V.P., Rogov V.V., Kurchatova A.N. et al., Distribution of microorganisms in frozen soils, *Cryosphere of the Earth.*, **15(4)**, 86 (2011).
4. Domanskaya O.V. Melnikov V.P., Ogurtsova L.V. et al., Some features of the enzymatic activity of various strains of the genus *Bacillus* isolated from frozen sediments, *Cryosphere of the Earth.*, **21(5)**, 63 (2017).
5. Edidin G.M., Brushkov A.V. and Ignatov S.G., Phylogenetic analysis of microorganisms from frozen soils, *Vestn. Moscow un-ta. Ser. 4. Geology.*, **4(5)**, 92 (2016).
6. Shatilovich A.V., Shmakova L.A., Gubin S.V. and Gilichinsky D.A., Viable protozoa in the permafrost of the Arctic, *Cryosphere of the Earth*, **14(2)**, 69 (2010).
7. Brouchkov A., Melnikov V., Kalenova L. et al., Permafrost Bacteria in Biotechnology: Biomedical Applications, *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology / R. Margesin (ed.). [S. l.]: Springer*, 541 (2017).
8. Bérdy J., Bioactive microbial metabolites, *J. Antibiot.*, **58 (1)**, 1 (2005).
9. Pathma J., Rahul G., Kamaraj K. R, Subashri R. and Sakthivel N., Secondary metabolite production by bacterial antagonists, *J. Biol. Control*, **25 (3)**, 165 (2011).
10. Vaishnav P., Demain A. L. Unexpected applications of secondary metabolites, *Biotechnol. Adv.*, **29 (2)**, 223 (2011).

11. Keswani C., Singh S. P., Cueto L., García-Estrada C., Mezaache-Aichour S., Glare T.R., Borriss R., Singh S. P., Blázquez MAol. and Sansinenea E. Auxins of microbial origin and their use in agriculture, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **104** (20), 8549 (2020).
12. Khan M.T., Mohammad F., Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants, *Biol. Med.*, **3**(2), 232 (2011).
13. Keswani C., Bisen K., Singh V., Sarma B.K and Singh H. B., Formulation technology of biocontrol agents: Present status and future prospects, *Bioformul. Sustain. Agric.* 35 (2016).
14. Ruparelia R. J., Jha C. K., Sayyed R. Z., Mitra D., Priyadarshini A., Senapati A., Panneerselvam P., and Mohapatra P.K., Articulating beneficial rhizobacteria mediated plant defenses through induced systemic resistance, *Pedosphere*, (2022).
15. Keswani C., Singh H. B., García-Estrada C., Caradus J., He Y. W., Mezaache-Aichour S., Glare T. R., Borriss R. and Sansinenea E., Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important bacteria as next-generation pesticides, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **104** (3), 1013 (2019).
16. Keswani C., Singh H. B., Hermosa R., García-Estrada C., Caradus J., He Y.W., Mezaache-Aichour S., Glare T.R., Borriss R., Vinale F. and Sansinenea E., Antimicrobial secondary metabolites from agriculturally important fungi as next biocontrol agents, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **103** (23), 9287 (2019).
17. Sansinenea E., Ortiz A. Secondary metabolites of soil Bacillus spp., *Biotechnol. Lett.*, **33** (8), 1523, (2011).
18. Saritha M. B., Janeesha E., Gusain P., Khoshru B., Abo Nouh F. A., Rani A., Olatunbosun A. N., Ruparelia J., Rabari A., Mosquera-Sánchez L.P., Mondal R., Verma D., Panneerselvam P., Mohapatra P.K. and Guerra B.E., Sierra Arbuscular mycorrhizal fungal association boosted the arsenic resistance in crops with special responsiveness to rice plant, *Environ. Exp. Bot.*, **193**, Article 104681 (2022).
19. Sansinenea E., Bacillus spp.: as plant growth-promoting bacteria Second. Metab. Plant Growth Promo. Rhizomicroorg. Discov. Appl., 225 (2019).
20. Jakubiec-Krzesniak K., Rajnisz-Mateusiak A., Guspel A., Ziemska J. an Solecka J., Secondary metabolites of actinomycetes and their antibacterial, antifungal and antiviral properties, *Pol. J. Microbiol.*, **67** (3), 259-272 (2018).
21. Chater K. F., Recent advances in understanding Streptomyces, *Research*, **5**, (2016).
22. Singh R. P., Shelke G.M., Kumar A. and Jha P. N., Biochemistry and genetics of ACC deaminase: a weapon to “stress ethylene” produced in plants, *Front. microbiol.*, **6**, 937 (2015).
23. Apridiana I., Aisyah S., Oktavioni M., Fatiah R. and Hourssari J., The cultural medium optimization of serratia plymuthica UBCF_13 to produce antifungal compounds, *Proceedings of the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, **741**, 012062 (2021).
24. Ruparelia J., Rabari A., Joshi N. and Jha C. K., Isolation methods for evaluation of extremophilic microbial diversity from the antarctica region, *Microb. Divers. Hotspots*, 267 (2022).
25. Salla T. D., Silva T. R., Astarita L. V. and Santarém E. R., Streptomyces rhizobacteria modulate the secondary metabolism of Eucalyptus plants, *Plant Physiol. Biochem.*, **85**, 14 (2014).
26. Aggarwal N., Thind S., Sharma Role of secondary metabolites of actinomycetes in crop protection, *Plant Growth Promoting Actinobacteria*, Springer, 99 (2016).
27. Velázquez-Becerra C., Macías-Rodríguez L.I., López-Bucio J., Flores-Cortez I., Santoyo G., Hernández-Soberano C. and Valencia-Cantero E., The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound that inhibits growth of phytopathogenic fungi in vitro, *Protoplasma*, **250** (6), 1251 (2013).
28. Abdallah R.A.B., Mejdoub-Trabelsi B., Nefzi A., Jabnoun-Khiareddine H. and Daami-Remadi M., Isolation of endophytic bacteria from *Withania somnifera* and assessment of their ability to suppress Fusarium wilt disease in tomato and to promote plant growth, *J Plant Pathol. microbiol.*, **7** (5) (2016).
29. Torres M. J., Brandan C. P., Petroselli G., Erra-Balsells R. and Audisio M. C., Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDI-TOF MS analysis of their bioactive compounds, *Microbiol. Res.*, **182**, 31 (2016).
30. Mahmoud O. M. B., Hidri R., Talbi-Zribi O., Taamalli W., Abdelly C. and Djébal N., Auxin and proline producing rhizobacteria mitigate salt-induced growth inhibition of barley plants by enhancing water and nutrient status, *S. Afr. J. Bot.*, **128**, 209 (2020).

31. Hong B., Joe M., Selvakumar G., Kim K., Choi J. and Sa T., Influence of salinity variations on exocellular polysaccharide production, biofilm formation and flocculation in halotolerant bacteria, *J. Environ. Biol.*, **38** (4), 657 (2017).
32. Karnwal, Screening of plant growth-promoting rhizobacteria from maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum*), *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.*, **12** (3), 6170 (2012).
33. Li H., Ding X., Wang C., Ke H., Wu Z., WANG Y. and Guo J., Control of tomato yellow leaf curl virus disease by *Enterobacter asburiae* BQ9 as a result of priming plant resistance in tomatoes, *Turk. J. Biol.*, **40** (1), 150 (2016).
34. Bharti N., Barnawal D., Awasthi A., Yadav A. and Kalra A., Plant growth promoting rhizobacteria alleviate salinity induced negative effects on growth, oil content and physiological status in *Mentha arvensis*, *Acta Physiol. Plant.*, **36** (1), 45 (2014).
35. Qurashi A. W., Sabri A. N., Bacterial exopolysaccharide and biofilm formation stimulate chickpea growth and soil aggregation under salt stress, *Braz. J. Microbiol.*, **43**, 1183 (2012).
36. Velmurugan S., Raman K., Viji V. T., Donio M., Jenifer J. A., Babu M. and Citarasu T., Screening and characterization of antimicrobial secondary metabolites from *Halomonas salifodinae* MPM-TC and its in vivo antiviral influence on Indian white shrimp *Fenneropenaeus indicus* against WSSV challenge, *J. King Saud Univ. Sci.*, **25** (3), 181 (2013).
37. Marasco R., Mapelli F., Rolli E., Mosqueira M.J., Fusi M., Bariselli P. and Borin S., *Salicornia strobilacea* (synonym of *Halocnemum strobilaceum*) grown under different tidal regimes selects rhizosphere bacteria capable of promoting plant growth, *Front. microbiol.*, **7**, 1286 (2016).
38. Orhan F., Alleviation of salt stress by halotolerant and halophilic plant growth-promoting bacteria in wheat (*Triticum aestivum*), *Braz. J. Microbiol.*, **47**, 621 (2016).
39. Orozco-Mosqueda M., Duan J., DiBernardo M., Zetter E., Campos-García J., Glick B.R. and Santoyo G., The production of ACC deaminase and trehalose by the plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4 synergistically protect tomato plants against salt stress, *Front. microbiol.*, **10**, 1392 (2019).
40. Tewari S., Arora N. K., Role of salicylic acid from *Pseudomonas aeruginosa* PF23 EPS+ in growth promotion of sunflower in saline soils infested with phytopathogen *Macrophomina phaseolina*, *Environ. Sustain.*, **eleven**, 49 (2018).
41. Alijani Z., Amini J., Ashengroph M. and Bahramnejad B., Antifungal activity of serratia rubidaea Mar61-01 purified prodigiosin against colletotrichum nymphaeae, the causal agent of strawberry anthracnose, *J. Plant Growth Regul* (2021).
42. Kamou N. N., Dubey M., Tzelepis G., Menexes G., Papadakis E. N., Karlsson M. and Jensen D. F., Investigating the compatibility of the biocontrol agent *Clonostachys rosea* IK726 with prodigiosin-producing *Serratia rubidaea* S55 and phenazine-producing *Pseudomonas chlororaphis* ToZa7, *Arch. microbiol.*, **198** (4), 369 (2016).
43. Jaddoa H. H., Hameed I. H., Mohammed Analysis of volatile metabolites released by *Staphylococcus aureus* using gas chromatography-Mass spectrometry and determination of its antifungal activity Orient, *J. Chem.*, **32** (4), 8 (2016).
44. Popp P. F., Mascher T. Coordinated Cell Death in Isogenic Bacterial Populations: Sacrificing Some for the Benefit of Many? *Journal of Molecular Biology*, **431** (23), 4656–4669 (2019).
45. Newman D.J., Cragg G.M., Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014, *J. Nat. Prod.*, **79** (3), 629-661 (2016).
46. Sharrar A. M., Crits-Christoph A., Méheust R., Diamond S., Starr E. P., Banfield J. F. and Davies J. E., Bacterial secondary metabolite biosynthetic potential in soil varies with phylum, depth, and vegetation type, *mBio*, **11** (3), e00416-e00420 (2020).
47. Müller S., Strack S. N., Hoefler B. C., Straight P. D., Kearns D. B. and Kirby J. R., Bacillaene and Sporulation Protect *Bacillus Subtilis* from Predation by *Myxococcus Xanthus*, *Appl. Environ. microbiol.*, **80** (18), 5603 (2014).
48. Smirnova T. A., Zubasheva M. V., Shevlyagina N. V., Nikolaenko M. A. and Azizbekyan R. R., Electron microscopic study of the surface of bacilli spores, *Microbiology*, **2** (6), 698 (2013).
49. May J. J., Wendrich T. M. and Marahiel M. A., The Dhb operon of *Bacillus subtilis* encodes the biosynthetic template for the catecholic siderophore 2,3-dihydroxybenzoate-glycine-threonine trimeric ester bacillibactin, *J. Biol. Chem.*, **276** (10), 7209 (2001).

50. Koumoutsis A., Chen X. H., Henne A., Liesegang H., Hitzeroth G., Franke P., Vater J. and Borriss R., Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in bacillus amyloliquefaciens strain FZB42, *J. Bacteriol.*, **186** (4), 1084-1096 (2004).
51. Lin T. P., Chen C. L., Chang LiK, Tschen J. S. M. and Liu S. T., Functional and transcriptional analyzes of a fengycin synthetase gene, FenC, from bacillus subtilis, *J. Bacteriol.*, **181** (16), 5060 (1999).
52. Tsuge K., Ano T., Hirai M., Nakamura Y. and Shoda M., The genes DegQ, Pps, and Lpa-8 (Sfp) are responsible for conversion of bacillus subtilis 168 to lipastatin production, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43** (9), 2183 (1999).
53. Bóka B., Manczinger L., Kocsubé S., Shine K., Alharbi N. S., Khaled J. M., Münsterkötter M. and Vágvölgyi C., Kredics Genome analysis of a bacillus subtilis strain reveals genetic mutations determining biocontrol properties, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **35** (3), 1 (2019).
54. Lamont I. L., Martin L. W., Identification and characterization of novel pyoverdine synthesis genes in pseudomonas aeruginosa, *Microbiology*, **149** (4), 833 (2003).
55. Mercado-Blanco J., Drift K.M.G.M., Olsson P. E., Thomas-Oates J. E., Loon L. C. and Bakker P. A. H. M., Analysis of the PmsCEAB Gene Cluster involved in the biosynthesis of salicylic acid and the siderophore pseudomonine in the biocontrol strain pseudomonas fluorescens WCS374, *J. Bacteriol.*, **183** (6), 1909 (2001).
56. DeLong J. P., Okie J. G., Moses M. E., Sibly R. M. and Brown J. H., Shifts in metabolic scaling, production, and efficiency across major evolutionary transitions of life, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 12941 (2010).
57. Khan M. Y., Zahir Z. A., Asghar H. N. and Waraich E. A., Preliminary investigations on selection of synergistic halotolerant plant growth promoting rhizobacteria for inducing salinity tolerance in wheat, *Pak. J. Bot.*, **49** (4), 1541 (2017).
58. Najimi M., Lemos M. L. and Osorio C. R., Identification of siderophore biosynthesis genes essential for growth of Aeromonas salmonicida under iron limitation conditions, *Appl. Environ. microbiol.*, **74** (8), 2341 (2008).
59. Sunita K., Mishra I., Mishra J., Prakash J. and Arora N. K., Secondary metabolites from halotolerant plant growth promoting rhizobacteria for ameliorating salinity stress in plants, *Front. microbiol.*, **11**, 2619 (2020).
60. Demain A.L., Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **52** (4), 455 (1999).
61. Raveh A., Deleka P.C., Dobry C.J., Peng W., Schultz P. J., Blakely P.K. and Sherman D.H., Discovery of potent broad spectrum antivirals derived from marine actinobacteria, *PLoS One*, **8** (12), e82318 (2013).
62. Chakraborty M., Fajle Rabby S. M., Gupta D. R., Rahman M., Paul S. K., Mahmud N. U., Rahat A. A. M., Jankuloski L. and Islam T., Natural protein kinase inhibitors, staurosporine, and chelerythrine suppress wheat blast disease caused by magnaporthe oryzae triticum, *microorganisms*, **10** (6), Article 1186 (2022).
63. Ruparelia J., Saraf M. and Jha C. K., Screening and optimization for cellulase production by soil bacterial isolates JRC1 and JRC2, *BBRC*, **13**, 159 (2020).
64. Corato U., Salimbeni R., Pretis A., Avella N. and Patrino G., Antifungal activity of crude extracts from brown and red seaweeds by a supercritical carbon dioxide technique against fruit postharvest fungal diseases, *Postharvest Biol. Technol.*, **131**, 16 (2017).
65. Corato U., Viola E., Arcieri G., Valerio V., Cancellara F. A. and Zimbardi F., Antifungal activity of liquid waste obtained from the detoxification of steam-exploded plant biomass against plant pathogenic fungi, *Crop Prot.*, **55**, 109 (2014).
66. Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G. and Marinelli F., Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics, *Antonie Van Leeuwenhoek*, **78** (3), 399 (2000).
67. Parekh S., Vinci V. and Strobel R., Improvement of microbial strains and fermentation processes, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54** (3), 287 (2000).
68. Pinchuk I.V., Bressollier P., Verneuil B., Fenet B., Sorokulova I. B., Mégraud F. and Urdaci M. C., In vitro anti-Helicobacter pylori activity of the probiotic strain Bacillus subtilis 3 is due to secretion of antibiotics, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45** (11), 3156 (2001).

69. Lawrance S., Varghese S., Varghese E. M. and Asok A. K., Quinoline derivatives producing *Pseudomonas aeruginosa* H6 as an efficient bioherbicide for weed management, *Biocatal. Agric. Biotechnol.*, **18**, Article 101096 (2019).
70. Liu L., Ruan D., Peng L., Li M., Sun Z. Yu, Thuringiensin: a thermostable secondary metabolite from *Bacillus thuringiensis* with insecticidal activity against a wide range of insects *Toxins*, **6 (8)**, pp. 2229-2238 (2014)
71. Espinasse S., Gohar M., Chaufaux J., Buisson C., Perchat S. and Sanchis V., Correspondence of high levels of beta-exotoxin I and the presence of cry1B in *Bacillus thuringiensis*, *Appl. Environ. microbiol.*, **68 (9)**, 4182 (2002).
72. Ruparella J., Rabari A., Joshi N., Dhediya A., Halpati J., Patel A. and Jha C. K., Reconnoitring natural antibacterial appraisal of medicinal plants extract against human pathogen salmonella paratyphi A and salmonella paratyphi B, *Chem. Biomol. Eng.*, **6 (2)**, 30 (2021).
73. Pat. 2722670C1 Russian Federation Means for stimulating the growth of meristem culture *Solanum tuberosum*/ N.O. Renev, A.M. Subbotin, S. A. Petrov, V. A. Malchevsky – No.2019134349; application 10.25.2019; publ. 06/02/2020; Bull. No. 16.
74. Pat. 2724538C1 Russian Federation Means for stimulating the growth of meristem culture *Solanum tuberosum* / N. O. Renev, A. M. Subbotin, S. A. Petrov, V. A. Malchevsky – No.2019134348; application 10.25.2019; publ. 06/23/2020; Bull. No. 18.
75. Pat. 2732627C1 Russian Federation Means for increasing cold resistance and productivity of plants / S. A. Petrov, A. M. Subbotin, Timofeev V.N., Narushko M.V. – No.2019132572; application 10/14/2019; publ. 09.21.2020; Bull. No. 27. – 6 p.
76. Kastornov A. A. Petrov S. A., Subbotin A. M. and Malchevsky V. A., The influence of microorganisms of paleoecosystems on the cytogenetic apparatus of *Allium cepa*, *Bulletin of the North-Eastern Federal University named after M. K. Ammosova Series "Medical Sciences"*, **3 (24)**, 5 (2021).
77. Kastornov A. A., Subbotin A. M. and Petrov S. A., The influence of microorganisms of the Arctic paleoecosystems on the morphometric parameters and the cytogenetic apparatus of *Allium cepa*, *BIO Web of Conferences*, **43**, 3013 (2022).
78. Kastornov A. A., Petrov S. A. and Subbotin A. M., The influence of microorganisms of the genus *Bacillus* from permafrost on the performance of the green part of the onion *Allium cepa*, *World of Innovation.*, **2**, 22 (2023).
79. Darshan N., Manonmani H. K. Prodigiosin and its potential applications, *J. Food Sci. Technol.*, **52 (9)**, 5393 (2015).
80. Petrov S. A., Subbotin A. M., Bazhin A. S. and Narushko M. V., Influence of the Microbiota of the Cryolithozone Paleoecosystems on the Behavioral Functions of the Nervous System of Chickens *Gallus gallus*, *Bulletin of experimental biology and medicine*, **171 (2)**, 234 (2021).
81. Kalenova L.F., Petrov S.A. and Sukhovei Y.G., Reparative and immunomodulatory potential of low-molecular-weight fraction of secondary metabolites of *Bacillus* sp, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **172 (3)**, 332 (2022).
82. Kalenova L. F., Petrov S. A., Subbotin A. M., Narushko M. V. and Bazhin A. S., Influence of Paleobacteria on the Proliferative Activity of Human Lymphocytes In Vitro, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **174 (6)**, 758 (2023).
83. Petrov S. A., Sukhovey Yu. G., Kalenova L. F., Kostolomov E. G., Subbotin A. M. and Kastornov A. A., The influence of permafrost microorganisms on the differentiation of monocytes in vitro, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **175 (3)**, 345 (2023).
84. Kalenova L. F., Petrov S. A. and Bazhin A. S., Dose-dependent effect of metabolites of microorganisms *Bacillus* Sp. from permafrost rocks on the differentiation of lymphocytes in the thymus, *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, **169 (1)**, 74 (2020).