

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИРОДНЫХ СИМБИОЗОВ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Н.В.Немцева, О.А.Гоголева, М.Е.Игнатенко

БИОМЕДИЦИНСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ СИМБИОЗОВ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург

Представлен анализ последних опубликованных работ по взаимодействию между микроводорослями и бактериями. Микроводоросли, являясь результатом многомиллионной эволюции, способны к взаимодействию друг с другом, а также и с другими организмами. Взаимодействия между водорослями и бактериями демонстрируют разнообразие способов коммуникации от мутуализма до паразитизма. Они могут существенным образом влиять на поддержание жизнедеятельности, определяя вектор направленности связей, и в итоге, обеспечивая целостность экосистем. У исследователей возрастает внимание к альго-бактериальным симбиозам как продуцентам биомассы, а также биологически активных соединений. Направленное развитие зеленых биотехнологий нацеливает на создание новых направлений использования альго-бактериальных взаимодействий. Проанализированные материалы свидетельствуют о высоком фундаментальном и прикладном потенциале симбиозов микроводорослей с бактериями для биологии и медицины.

Журн. микробиол., 2018, № 4, С. 82—87

Ключевые слова: микроводоросли, бактерии, симбиоз, альгобактериальные взаимодействия, биотехнология

N.V.Nemtseva, O.A.Gogoleva, M.E.Ignatenko

BIOMEDICAL POTENTIAL OF ALGO-BACTERIAL SYMBIOSES

Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Orenburg, Russia

The analysis of the latest published works on the interactions between microalgae and bacteria is presented. Microalgae as a result of multimillion evolution can interact with each other and with another microorganisms. Interactions between algae and bacteria demonstrate a variety of communication from mutualism to parasitism. They can significantly affect the maintenance of vital activity, determines the direction vector, ensure the integrity of ecosystems. In modern society the attention of researches to algae-bacterial symbiosis increases as a biomass producer and as biologically active compounds. The development of green biotechnology is aimed at creating new directions for the use of algae-bacterial interactions. The analyzes materials testify to the high fundamental and applied potential of symbiosis microalgae with bacteria for biology and medicine.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 4, P. 82—87

Key words: microalgae, bacteria, symbiosis, algobacterial interactions, biotechnology

Микроводоросли, являясь результатом многомиллионной эволюции, способны к взаимодействию друг с другом, а также и с другими организмами [3, 10]. Теперь уже невозможно составить полное представление о биологии и экологии этих древнейших фотосинтезирующих организмов, изучая их в

отрыве от бактериальных симбионтов. Разнообразие способов взаимодействия от мутуализма до паразитизма может существенным образом влиять на поддержание их жизнедеятельности, определяя вектор направленности связей, а также обеспечивая целостность экосистем [23, 27]. Имеется множество свидетельств партнерских взаимоотношений бактерий и водорослей в природной среде. Между водорослями и бактериями-симбионтами осуществляется обмен нутриентами [23]. Установлено наличие сигнальной трансдукции, а также переноса генов [20, 22, 28, 34].

В процессе фотосинтеза водоросли выделяют органические вещества, которые являются источником растворенного углерода для гетеротрофных бактерий, обитающих на поверхности водорослевых клеток, в их фикосфере. Существует мнение, что фикосфера, характеризующаяся повышенным содержанием фиксированного органического углерода, для гетеротрофных бактерий эквивалентна оазису [27, 31]. Кроме обмена углерода, описаны также азотно-опосредованные отношения, складывающиеся между микроводорослями и гетеротрофными бактериями [23].

В симбиотических системах водорослями продуцируются полиненасыщенные жирные кислоты, полисахариды, пигменты, биоактивные пептиды, минералы и ферменты [13]. В свою очередь, бактериальные симбионты способны обеспечивать водорослевого хозяина витаминами, гетероауксинами и другими биологически активными соединениями. Имеются сведения, что продуцируемый бактериями витамин В12, а также бактериальные сидерофоры участвуют в стимуляции быстрого роста водорослей в альго-бактериальных сообществах [12, 16]. При этом оба партнера, как водоросли, так и бактерии, способны изменять свой метаболизм для удовлетворения потребностей друг друга. Подобный феномен продемонстрирован на примере альго-бактериальных ассоциаций, в составе которой обнаружены бактерии рода *Roseobacter* [30]. Аналогичные данные получены для других бактерий рода *Rhodococcus*, сопутствующих зеленым водорослям [1].

В современных исследованиях уточняется молекулярная филогения бактериальных симбионтов, коллективную роль которых еще предстоит изучить. Дискутируется вопрос об имеющем место специфическом взаимодействии между водорослевым хозяином и его бактериальными симбионтами [18, 22]. В наших исследованиях обоснован симбиотический подход к оценке структурной организации природного и экспериментального фитопланктонного сообщества, в котором выявлена многокомпонентность и сложная интеграция по типу ассоциативного симбиоза. Показано, что ассоциативные связи определяются наличием основного партнера или хозяина (*Chlorophyta*), стабильных доминантных микропартнеров (*Euglenophyta*, *Dinophyta*, *Bacillariophyta*, *Chrysophyta*), представленных группой взаимозаменяемых симбионтов, и сопутствующих ассоциативных микросимбионтов (*Cyanophyta*, *Xantophyta*) [6].

Биотехнология микроорганизмов является инновационным сектором в мире. За последние сто лет накоплен значительный опыт в области альгобиотехнологий. Среди массы уже известных науке видов микроводорослей, из огромного числа обитающих на Земле, лишь у малой части (около 40 видов) имеется промышленный потенциал. Их хороший рост и высокая урожайность являются предпосылкой их коммерческого применения. По результатам оценки основных тенденций в области патентования ком-

мерческое значение имеют зеленые водоросли (*Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Tetraselmis*), диатомовые водоросли (*Skeletonema*, *Thalassiosira*, *Chaetoceros*, *Nitzschia*, *Phaeodactylum*) и некоторые другие, представляющие интерес для производства биопродуктов, биотоплива, фармацевтических препаратов и т.п. [32]. Более глубокое понимание контроля взаимодействия между микроводорослями и бактериями должно быть полезно для повышения эффективности производства биомассы этих микроорганизмов и связанных с ними ценных соединений. Однако активное культивирование микроводорослей началось всего несколько десятилетий назад. Помимо естественно произведенных соединений микроводоросли могут стать альтернативой для производства фармацевтических препаратов для экспрессии рекомбинантных белков и других ценных продуктов [33].

Существующие тесные альго-бактериальные связи, с одной стороны, еще изучены недостаточно из-за обременительной задачи разделения партнеров, состоящих друг с другом в сильной естественной связи [27]. С другой стороны, по этой же причине современными биотехнологами ведется поиск подходов эффективного использования альго-бактериальных взаимодействий [29].

При искусственном моделировании альго-бактериального симбиоза наметились две стратегии укрепления связей между микроводорослями и бактериями. Первая стратегия опирается на поиск средств, обеспечивающих искусственное наращивание объема фикосферы. Вторая стратегия обеспечивается введением бактериальных симбионтов, обладающих определенными свойствами. В свете этого на модели *Chlorella sorokiniana* предложена методика построения искусственных альго-бактериальных сообществ, пригодных для производства ферментированных продуктов питания, а также для промышленной очистки сточных вод [19].

Изучение механизмов, лежащих в основе взаимодействия водорослей и бактерий, может способствовать разработке эффективных пока еще неиспользованных биотехнологических процессов. Взаимодействия хозяина со своей микробиотой широко изучаются у человека [24]. Показано, что в микробиоценозе — открытой саморегулирующейся системе, представленной совокупностью популяций автохтонных и аллохтонных видов, осуществляются сложные биокоммуникативные взаимоотношения, исходом которых определяется гомеостаз человека. Методологическим ключом к пониманию межмикробных взаимодействий может явиться система распознавания «свой-чужой» [3]. Предложенный данными исследователями метод межмикробного распознавания «свой-чужой» в паре «доминант-ассоциант» базируется на определении биологических параметров: ростовых свойств, биоуплотнения и антилизотической активности, что предлагается для практической реализации в качестве базового метода при отборе пробиотических штаммов и культур микроорганизмов при создании новых симбиотических композиций. В наших исследованиях выявлено, что альго-бактериальные взаимоотношения могут быть построены на основе функциональных связей «лизотим-антилизотим», а также «каталаза-перекись водорода». Реакция каталазы бактериальных симбионтов на взаимодействия с водорослевым хозяином может быть пригодна для распознавания «свой-чужой» при создании искусственных композиций [2]. В итоге использование микробных симбионтов для стимуляции роста культуры микроводорослей позволяет наращивать производство биомассы водорослей как ценного пищевого продукта.

В смешанном сообществе в результате межмикробных взаимодействий достигается эффект усиления общего выхода продукта, что представляет особую значимость для масштабного производства биоэнергии [29]. Производительность липидов в смешанных культурах может достигаться применением разных подходов: варьированием объемов инокулятов, а также регуляцией удельной скорости роста автотрофного и гетеротрофного компонентов [26].

Участие в quorum сигнализации — еще одна форма альго-бактериальных взаимодействий. Показано, что водоросли способны выделять алкилоксибензолы, ацил-гомосерин лактоны, регулируя образование зрелой биопленки [21]. Процесс биопленкообразования — обычное явление, происходящее как в естественных, так и в искусственных системах. Данный процесс обеспечивается за счет продукции бактериями полимерного биоматрикса, биологическое значение которого рассмотрено [14]. Для инициации этого процесса помимо твердой поверхности микроорганизмы нуждаются в воде [11]. Значение мультивидовых биопленок в экологии, медицине и биотехнологии подробно рассмотрено в [8]. Отмечено, что формирование биопленок обеспечивает защиту сообщества от неблагоприятных условий внешней среды. Исследования показывают, что защитный эффект для микроорганизмов, входящих в состав мультивидовых биопленок, резко возрастает. Одним из примеров подобных образований являются микробные маты, в которых одним из основных структурирующих организмов являются цианобактерии. Наиболее часто мультивидовые биопленки используются в биологической очистке сточных вод. Предложены детально разработанные различные технологические схемы, используемые в крупномасштабных сооружениях по очистке сточных вод различного генеза и состава [8]. Продемонстрирован новый подход очистки сточных вод, содержащих углеводороды. При использовании мультивидовых биопленок, содержащих кроме нефтеокисляющих бактерий еще и кислородные фототрофные микроорганизмы, обеспечивающие кислородом монооксигеназы нефтеокислителей, удалось повысить эффективность биодеструкции [9].

В последнее время в научной литературе обсуждается вопрос позитивного значения биопленок в системах водоочистки и подачи воды. Предполагается, что автохтонная микрофлора, поглощая питательные вещества из воды, выполняет свою естественную функцию самоочищения [15]. Напротив, негативным проявлением биопленкообразования является то, что биопленки способны подвергаться инфицированию условно патогенными микроорганизмами. Это создает проблему для здоровья потребителей питьевой воды. В наших исследованиях выявлено присутствие в артезианской воде автохтонной микрофлоры, способной к биопленкообразованию на всех технологических этапах водоподготовки. Кроме бактерий в организации биопленок участвовали микроводоросли и протисты. Отмечена возможность сохранения микрофлоры с высоким персистентным потенциалом [7]. Эволюционно сложившийся механизм существования микроорганизмов в биопленках, обеспечивающий устойчивость к дезинфекции и промывке систем, нацеливает на поиск новых подходов борьбы с этим явлением. В данном аспекте интерес представляют находки микроорганизмов, продуцирующих метаболиты, вносящие помехи в систему кворумного зондирования (QS). Это явление получило название quorum quenching (QQ) [17]. Поиск подобных метаболитов перспективен для развития новых биологических подходов в борьбе с биообрастанием.

Таким образом, внимание исследователей к альго-бактериальным симбиозам как продуцентам биомассы, а также биологически активных веществ в современном обществе возрастает. Направленное развитие зеленых технологий нацеливает на создание новых технологий на основе альго-бактериальных симбиозов. Практическое применение некоторых симбиотических культур уже достигло уровня коммерциализации, например, для производства биомассы, а также для биоремедиации объектов окружающей среды. Ряд других альго-бактериальных ассоциаций еще только рассматривается в качестве объекта потенциального применения в медицине, фармацевтической промышленности и др. Все вышеизложенное свидетельствует о высоком фундаментальном и прикладном потенциале альго-бактериальных симбиозов для биологии и медицины.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисова Е.В., Ногина Т.М. Бактерии рода *Rhodococcus*, сопутствующие зеленым водорослям в природе и при лабораторном культивировании. Гидробиол. журнал. 1997, 3: 44-50.
2. Бухарин О.В., Немцева Н.В. Микробиология биоценозов природных водоемов. Екатеринбург, УрО РАН, 2008.
3. Бухарин О.В., Перунова Н.Б. Микросимбиоз. Екатеринбург, УрО РАН, 2014.
4. Плаголева О.А., Зенова Г.Ш., Добровольская Т.Г. Взаимодействие водорослей и бактерий-спутников в ассоциативных культурах. Альгология. 1992, 2(2): 57-63.
5. Горобец О.Б., Блинкова Л.П., Батура А.П. Влияние микроводорослей на жизнеспособность микроорганизмов в естественной и искусственной среде обитания. Журн. микробиол. 2001, (1): 104-108.
6. Немцева Н.В. Гидробиоценозы — модельная система ассоциативного симбиоза. Журн. микробиол. 2015, (4): 49-54.
7. Немцева Н.В. Изучение образования биопленок в питьевой воде в процессе водоподготовки. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН (электронный журнал). 2017, 2: 1-10.
8. Ножевникова А. Н., Бочкова Е. А., Плакунов В. К. Мультивидовые биопленки в экологии, медицине и биотехнологии. Микробиология. 2015, 84(6): 623-644.
9. Al-Maillem D.M., Kansour M.K., Radwan S.S. Hydrocarbonoclastic biofilms based on sewage microorganisms and their application in hydrocarbon removal in liquid wastes. Can. J. Microbiol. 2014, 60(7): 477-486.
10. Cooper M.B., Smith A.G. Exploring mutualistic interactions between microalgae and bacteria in the omics age. Curr. Opin. Plant. Biol. 2015, 26: 147-153
11. Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell E. et al. Microbial Biofilms. Annu. Rev. Microbiol. 1995, 49: 711-745.
12. Croft M.T., Lawrence A.D., Raux-Deery E. et al. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. Nature. 2005, 438 (7064): 90-93.
13. Cuellar-Bermudez S.P., Aguilar-Hernandez I., Cardenas-Chavez D.L. et al. Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae: essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. Microb. Biotechnol. 2015, 8 (2): 190-209.
14. Decho A. W. The EPS Matrix as an Adaptive Bastion for Biofilms: Introduction to Special Issue. Int. J. Mol. Sci. 2013, 14 (12): 23297-23300.
15. Flemming H.-C., Wingender J. The biofilm matrix. Nature Reviews Microbiology. 2010, 8(9): 623-633.
16. Fuentes J. L., Garbayo I., Cuaresma M. et al. Impact of Microalgae-Bacteria Interactions on the Production of Algal Biomass and Associated Compounds. Mar. Drugs. 2016, 14(100): 1-16
17. Grandclément C., Tannières M., Moréra S. et al. Quorum quenching: role in nature and applied developments. FEMS Microbiol. Rev. 2016, 40(1): 86-116.
18. Hester E. R., Barott K. L., Nulton J. et al. Stable and sporadic symbiotic communities of coral and algal holobionts. The ISME Journal. 2016, 10: 1157-1169.
19. Imase M., Watanabe K., Aoyagi H. et al. Construction of an artificial symbiotic community using a *Chlorella*-symbiont association as a model. FEMS Microbiol. Ecol. 2008, 63(3): 273-282.

20. Karuppiyah V., Alagappan K., Li Zh. Coral Holobiont Omics: Microbes and Dinoflagellates. *In: Marine OMICS: Principles and Applications* (Ed. Se-Kwon Kim). Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group. 2016, 8:133-163.
21. Kouzuma A., Watanabe K. Exploring the potential of algae/bacteria interactions. *Current Opinion in Biotechnology*. 2015, 33: 125-129.
22. Krohn-Molt I., Wemheuer B., Alawi M. et al. Metagenome survey of a multispecies and alga-associated biofilm revealed key elements of bacterial—algal interactions in photobioreactors. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013, 79(20): 6196-6206.
23. Lakaniemia A.-M., Hulatt C. J., Wakeman K. D. et al. Eukaryotic and prokaryotic microbial communities during microalgal biomass production. *Bioresource Technology*. 2012, 124: 387-393.
24. *Microbiota of the Human Body, Advances in Experimental Medicine and Biology*. (Ed. A. Schwiertz). Switzerland: Springer International Publishing, 2016.
25. Natrah F.M., Bossier P., Sorgeloos P. et al. Significance of microalgal-bacterial interactions for aquaculture. *Rev. Aquaculture*. 2013, 6: 48-61.
26. Papone T., Kookkhunthod S., Leasing R. Microbial oil production by monoculture and mixed cultures of microalgae and oleaginous yeasts using sugarcane juice as substrate. *World Acad. Sci. Eng. Technol.* 2012, 64: 1127-1131.
27. Ramanan R., Kim B.H., Cho D.H. et al. Algae-bacteria interactions: Evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnol. Adv.* 2016. 34 (1): 14-29.
28. Rosenberg E., Zilber-Rosenberg I. Symbiosis and Development: The Hologenome Concept. *Birth Defects Research (Part C)*. 2011, 93: 56-66.
29. Santos C. A., Reis A. Microalgal symbiosis in biotechnology. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014, 98 (13): 5839-5846.
30. Sule P., Belas R.A. Novel Inducer of *Roseobacter* Motility Is Also a Disruptor of Algal Symbiosis. *J. Bacteriol.* 2013, 195 (4): 637-646.
31. Takemura A.F., Chien D.M., Polz M.F. Associations and dynamics of *Vibrionaceae* in the environment, from the genus to the population level. *Front Microbiol.* 2014, 5 (38): 1-26.
32. Tate J. J., Gutierrez-Wing M. T., Rusch K. A. et al. The Effects of Plant Growth Substances and Mixed Cultures on Growth and Metabolite Production of Green Algae *Chlorella* sp. *J. Plant Growth Regulation*. 2013, 32 (2): 417-428.
33. Yan N., Fan C., Chen Y. et al. The Potential for Microalgae as Bioreactors to Produce Pharmaceuticals. *Int. J. Mol. Sci.* 2016, 17 (6): 962-986.
34. Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiol. Rev.* 2008, 32 (5): 723-735.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

Е.А.Селиванова¹, Ю.А.Хлопко¹, Н.Е.Гоголева^{2,3}, А.О.Плотников¹

ДЕТЕКЦИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В СОЛОНОВАТЫХ РЕКАХ ПРИЭЛЬТОНЬЯ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

¹Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза, Оренбург; ²Казанский институт биохимии и биофизики; ³ Казанский (Приволжский) федеральный университет

Цель. Выявить потенциально патогенных бактерий в планктоне солоноватых рек Приэльтонья методом высокопроизводительного секвенирования участка гена 16S рРНК. *Материалы и методы.* Образцы воды из солоноватых рек Ланцуг и Чернавка, впадающих в озеро Эльтон, отбирали в объеме 50 мл, фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 0.22 мкм. Тотальную ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции с предварительной гомогенизацией и ферментативным лизисом. ДНК-библиотеки для секвенирования создавали по протоколу Illumina с праймерами к варибельному участку V3—V4 гена 16S рРНК. Секвенирование проводили на платформе MiSeq («Illumina», США). *Результаты.* В планктонных образцах солоноватых рек Приэльтонья были обнаружены филоциты потенциально патогенных бактерий филума *Proteobacteria* из семейств *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Campylobacteraceae*,