

УДК 579.68

## ОЦЕНКА ВСТРЕЧАЕМОСТИ АУКСОТРОФНЫХ ВАРИАНТОВ *ESCHERICHIA COLI* В НЕКОТОРЫХ ВОДОЕМАХ КАРЕЛИИ

Н. А. Сидорова<sup>1</sup>, Е. А. Зацаринная<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Петрозаводский государственный университет

<sup>2</sup> Рязанский государственный университет имени С. А. Есенина

Проведено изучение потребностей в факторах роста (ауксотрофности) у 199 изолятов *Escherichia coli*, выделенных из ряда водных объектов Карелии, которые отличаются типом и интенсивностью антропогенного воздействия. Установлено, что ауксотрофные варианты эшерихий встречаются во всех обследованных водоемах. Минимальное количество *E. coli*, нуждающихся в факторах роста, зафиксировано в центральной части Онежского озера. Отмечена зависимость встречаемости ауксотрофов от уровня поступления загрязняющих органических веществ. В водоемах, испытывающих интенсивную антропогенную нагрузку, большинство изолятов обладали множественной ауксотрофностью. При культивировании выделенных изолятов *E. coli* обнаружены ауксотрофные варианты практически по всем аминокислотам. Полученные результаты позволяют объективно оценивать состояние природных сообществ микроорганизмов в контексте процессов естественного самоочищения поверхностных водоемов.

Ключевые слова: ауксотрофность; *Escherichia coli*; аминокислоты; микробиологическая оценка водных объектов.

### N. A. Sidorova, E. A. Zatsarinnaya. ASSESSMENT OF AUXOTROPHIC *ESCHERICHIA COLI* OCCURRENCE IN SOME KARELIAN RESERVOIRS

The study of nutrient requirements of growth promoting factors was carried among 199 *Escherichia coli* species isolated from a series of water reservoirs in Karelia differing in the type and intensity of anthropogenic load. Auxotrophic *E. coli* were found in all of the surveyed reservoirs. A minimal percentage of *E. coli* that require growth factors was observed in the central part of Lake Onega. It is noted that the occurrence of auxotrophs depends on the level of water pollution. Most isolates in the reservoirs under intense anthropogenic load were multiple auxotrophs. Auxotrophic variants were discovered in almost all amino acids during the cultivation of *E. coli* isolates. The obtained results enable us to assess the state of natural microbial communities more objectively in terms of self-purification of surface water bodies.

Keywords: Auxotrophy; *Escherichia coli*; amino acids; microbiological assessment of water reservoirs.

#### Введение

В последнее время все большее внимание уделяется распространению явления

потери биосинтетических генов у бактерий [Ochman, Moran, 2001; Koskiniemi et al., 2012; Lee, Marx, 2012; Куклева и др., 2013; D'Souza et al., 2014], которая приводит к формированию

ауксотрофности, т. е. неспособности к самостоятельному синтезу какого-либо фактора роста [Жуков-Вережников, Пехов, 1963]. Потребность экологически и эпидемически значимых микроорганизмов в аминокислотах, витаминах, а также азотистых основаниях давно используется для изучения генетики и таксономии прокариот [Иерусалимский, 1963; Класовский, Степанов, 1975; Пейсахис, Степанов, 1978]. Наиболее широко данный феномен представлен у молочнокислых бактерий [van de Guchte et al., 2006], эндосимбионтов [McCutcheon, Moran, 2007] и патогенов [Ochman, Moran, 2001; Куклева и др., 2013], существующих в богатых питательными веществами условиях. Однако биоинформационный анализ 949 секвенированных геномов, проведенный G. D'Souza и ее коллегами [2014], допускает появление зависимости от различных факторов роста у большинства (76 %) видов зубактерий. По мнению Giovannoni et al. [2005] и Morris et al. [2012], ауксотрофы имеют селективное преимущество – более высокую скорость достижения максимальной плотности популяции по сравнению с культурами дикого типа (прототрофами) при наличии необходимых аминокислот, витаминов либо азотистых оснований.

Так, штаммы *Escherichia coli*, представителя семейства *Enterobacteriaceae*, в период сапрофитической стадии существования не испытывают потребности в каких-либо факторах роста. Однако еще в 1946 г. E. L. Tatum и J. Lederberg выделили ауксотрофные варианты эшерихий [цит. по: Жуков-Вережников, Пехов, 1963]. Несмотря на то что исследованию генетических, биохимических и физиологических параметров *E. coli* посвящено множество отечественных и зарубежных исследований, особенностям формирования ауксотрофов этого вида в окружающей среде до сих пор уделяется недостаточно внимания [Пшеничнов, Колотвинов, 1986; Ihssen et al., 2007]. Причиной их распространения может являться не только обмен факторами роста бактерий в пределах одного микробного сообщества [D'Souza et al., 2014], но также увеличение содержания органических веществ в открытых водоемах [Münster, 1993].

В настоящей работе предпринимается попытка изучить явление ауксотрофности среди природных изолятов *E. coli*, выделенных из ряда водных объектов Республики Карелия.

## Материалы и методы

Спектр ауксотрофности оценивался у природных изолятов *E. coli*, выделенных из проб бактериопланктона на семи станциях,

расположенных в акватории Петрозаводской и Кондопожской губы Онежского озера (станции 1 и 2), в центральной части озера – в районе острова Большой Клименецкий (ст. 3); рек Неглинка (ст. 4) и Лососинка (ст. 5); озера Каменный карьер (ст. 6) и Святозеро (ст. 7). Районы исследования отличаются по типу и интенсивности антропогенного воздействия (табл. 1).

Отбор проб воды проводили в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53415–2009 «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа». Для выделения представителей семейства *Enterobacteriaceae* использовали общепринятый метод мембранной фильтрации на среде Эндо (ГОСТ 31955–2012 (ISO 9308–1:2000) «Вода питьевая. Обнаружение и количественный учет *Escherichia coli* и колиформных бактерий. Часть 1. Метод мембранной фильтрации»). В работе применялись мембранные фильтры из нитрата целлюлозы с диаметром пор 0,2 мкм («Владисарт», г. Владимир). Видовая идентификация *E. coli* проводилась с применением тестов, входящих в так называемую формулу ТИМАЦ [Санитарная микробиология..., 1969] с использованием наборов ускоренного микробиологического определения (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург).

Ауксотрофные варианты *E. coli* идентифицировали по неспособности к росту на минимальной агаризованной среде [Clowes, Hayes, 1968]. Минимальный агар готовили из 300 мл 2%-го водяного агара, 100 мл солевого концентрата ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  – 20 г,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  – 4 г,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  – 8 г,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 12 г,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 4 г,  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,4 г, дистиллированная вода – 1000 мл) и 4 мл 20%-го раствора глюкозы. Пищевые потребности эшерихий определяли на минимальной среде аналогичного состава с различными комбинациями аминокислот [Clowes, Hayes, 1968]. В работе использовали 21 аминокислоту из 10 наборов. Среди них 16 протеиногенных аминокислот (аланин, цистеин, аргинин, глицин, аспарагин, аспарагиновая кислота, фенилаланин, валин, гистидин, глутамин, лейцин, лизин, метионин, серин, триптофан, цистеин), а также  $\beta$ -аланин, орнитин,  $\beta$ -фенил- $\beta$ -аланин, норлейцин и норвалин. Концентрация аминокислот соответствовала 2 мг/мл. Все культуры эшерихий инкубировали при +37 °С в течение 24 часов. Ауксотрофность подтверждали, анализируя рост *E. coli* на минимальной среде указанного состава в присутствии необходимых факторов роста. Полиауксотрофными считали культуры, нуждающиеся в пяти и более факторах роста (аминокислотах).

Для оценки статистической значимости различий полученных результатов применяли

Таблица 1. Краткая характеристика антропогенного воздействия на анализируемые водные объекты [по данным Гос. докладов о состоянии окружающей среды в Республике Карелия 2010–2013; Онежское озеро, 1999; Теканова, Тимакова, 2007; Биоресурсы..., 2008; Ильмаст и др., 2008]

Водный объект	Основные источники антропогенного воздействия	Класс, разряд и характеристика загрязненности	Ингредиенты с превышением ПДК	Уровень сапробности водного объекта
Центральное Онего	Поступление веществ из загрязненных губ	1 – чистая		олигосапробный
Петрозаводская губа Онежского озера	Сточные воды городского коллектора, речной дренажный сток с урбанизированных и сельскохозяйственных территорий, ливневый сток, выпадения из атмосферы	2 – слабозагрязненная (в 2010 г. 3 «а» – загрязненная) II-III класс – умеренно загрязненная	ХПК, Cu, Fe <sub>общ</sub> , БПК <sub>5</sub>	мезосапробный (в 2010 г. – β-мезосапробный)
Кондопожская губа Онежского озера	Промышленные воды целлюлозно-бумажного производства, коммунально-бытовые воды г. Кондопоги	III класс – умеренно загрязненная	БПК <sub>5</sub> , Fe <sub>общ</sub> , Mn, нефтепродукты	β-мезосапробный
р. Лососинка	Поверхностный сток с водосборной территории, ливневые канализационные стоки, стоки промышленных предприятий	3 «а» – загрязненная (в 2010 г. 4 «а» – грязная) II класс	ХПК, Cu, Fe <sub>общ</sub> , БПК <sub>5</sub> , нефть, NO <sub>2</sub>	β-мезосапробный
р. Неглинка	Поверхностный сток с водосборной территории, ливневые канализационные стоки, стоки промышленных предприятий	3 «б» – очень загрязненная (в 2010 г. 4 «а» – грязная и 4 «б» – очень грязная на разных створах) III-IV класс качества	ХПК, Cu, Fe <sub>общ</sub> , БПК <sub>5</sub> , нефть, NO <sub>2</sub> , pH – зафиксированы значения до 4,21	β-мезосапробный
оз. Каменный карьер	Поверхностный сток с водосборной территории	не определялся	-	олиготрофный
оз. Святозеро	Поверхностный сток с водосборной территории, коммунальные сточные воды п. Святозеро, форелевое хозяйство	-	БПК <sub>5</sub> , ХПК, Fe <sub>общ</sub>	мезосапробный

критерий  $\chi^2$  Пирсона [Ивантер, Коросов, 2000]. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез  $p = 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Питательные потребности в аминокислотах изучены у 199 культур *E. coli*. Ауксотрофные варианты выделены на всех станциях отбора проб бактериопланктона в количестве от 47 до 94 % от общего объема культур (табл. 2). Наименьшее количество ауксотрофов установлено для центральной части Онежского озера (47 %), подверженной менее интенсивному загрязнению, чем остальные водоисточники (см. табл. 1). 37 % ауксотрофных мутантов *E. coli* испытывали потребность в 1–4 аминокислотах, полиауксотрофность зафиксирована только для 10 % штаммов, дающих культуральный рост в присутствии 15 аминокислот из 21. Бактерии, выделенные в Петрозаводской и Кондопожской губах Онежского озера, испытывающих более интенсивную антропогенную нагрузку, чем центральная часть озера [Бояринов,

1992; Биоресурсы..., 2008], характеризовались высоким уровнем ауксотрофности (75 и 74 % соответственно). В Петрозаводской губе обнаружено 35 % культур, зависимых от 1–4 факторов роста, а в Кондопожской губе этот показатель приближался к 42 %. Полиауксотрофными оказались 45 % штаммов эшерихий в составе проб бактериопланктона Петрозаводской губы и 32 % – в составе проб Кондопожской губы.

Уровень ауксотрофности изолятов, выделенных из Неглинки, превышал 60 %, из них 30 % эшерихий были отнесены к полиауксотрофам. Культуры, нуждающиеся в присутствии одной аминокислоты, не обнаружены. В двух-трех аминокислотах нуждалось 32 % выделенных вариантов эшерихий. Максимальное количество необходимых аминокислот составило 16. Культуры *Escherichia coli*, обнаруженные в составе бактериопланктона реки Лососинки и озера Каменный карьер, оказались наиболее зависимы от факторов роста. 93 % эшерихий из реки Лососинки и 94 % из озера Каменный карьер идентифицированы как ауксотрофы. Причем если среди изолятов реки Лососинки

Таблица 2. Частота встречаемости ауксотрофных и полиауксотрофных вариантов от общего количества исследуемых изолятов

Исследуемый водный объект (количество изученных изолятов)	Количество ауксотрофов, %	Количество полиауксотрофных вариантов, %
Онежское озеро:		
Центральная часть (30)	47	10
Петрозаводская губа (20)	75	45
Кондопожская губа (38)	74	32
р. Лососинка (30)	93	87
р. Неглинка (20)	60	30
оз. Каменный карьер (32)	94	94
Святозеро (29)	83	79

Таблица 3. Частота встречаемости (%) питательных потребностей выделенных вариантов *Escherichia coli* в отдельных аминокислотах

Аминокислота	Станции отбора проб бактериопланктона						
	1	2	3	4	5	6	7
аланин	<b>35</b>	<b>16</b>	3	<b>38</b>	10	<b>63</b>	<b>41</b>
аргинин	<b>20</b>	<b>16</b>	7	<b>42</b>	<b>40</b>	<b>75</b>	<b>34</b>
глицин	15	<b>16</b>	3	<b>42</b>	<b>20</b>	<b>75</b>	<b>38</b>
аспарагин	<b>30</b>	<b>16</b>	3	<b>42</b>	<b>30</b>	<b>81</b>	<b>41</b>
аспарагиновая кислота	10	5	10	<b>35</b>	10	<b>88</b>	<b>28</b>
фенилаланин	10	5	13	<b>50</b>	<b>20</b>	<b>88</b>	<b>55</b>
валин	<b>25</b>	5	0	<b>42</b>	<b>20</b>	<b>88</b>	<b>52</b>
гистидин	10	5	7	<b>27</b>	<b>20</b>	<b>81</b>	<b>28</b>
глутамин	<b>30</b>	11	<b>20</b>	<b>73</b>	10	<b>50</b>	<b>72</b>
лейцин	10	11	13	<b>81</b>	<b>20</b>	<b>63</b>	<b>62</b>
лизин	10	5	3	<b>81</b>	0	<b>38</b>	<b>66</b>
метионин	<b>20</b>	11	10	<b>77</b>	<b>20</b>	<b>75</b>	<b>66</b>
серин	15	5	13	<b>81</b>	10	<b>44</b>	<b>48</b>
триптофан	<b>35</b>	<b>21</b>	<b>17</b>	<b>81</b>	<b>20</b>	<b>81</b>	<b>52</b>
цистеин солянокислый	10	<b>16</b>	10	<b>46</b>	10	<b>75</b>	<b>38</b>
цистеин	<b>40</b>	<b>63</b>	7	<b>62</b>	10	<b>44</b>	<b>52</b>
$\beta$ -аланин	<b>35</b>	5	10	<b>46</b>	<b>20</b>	<b>81</b>	<b>59</b>
орнитин	<b>20</b>	<b>21</b>	3	<b>73</b>	<b>20</b>	<b>69</b>	<b>55</b>
$\beta$ -фенил- $\beta$ -аланин	10	0	3	<b>50</b>	0	<b>88</b>	<b>52</b>
норвалин	10	5	3	<b>46</b>	<b>20</b>	<b>75</b>	<b>41</b>
норлейцин	<b>45</b>	<b>21</b>	3	<b>73</b>	<b>20</b>	<b>63</b>	<b>59</b>

Примечание. Полужирным шрифтом выделены аминокислоты, потребность в которых у *Escherichia coli* превышала 15 %.

6 % нуждались в 1–4 аминокислотах, то в составе бактериопланктона озера Каменный карьер таких культур не оказалось, и все выделенные эшерихии были отнесены к полиауксотрофам (94 %). Полиауксотрофия установлена для 87 % исследуемых изолятов реки Лососинки. Для эшерихий, выделенных из Святозера, также характерна высокая потребность в факторах роста: ауксотрофность составила 83 %, нуждающимися в пяти и более аминокислотах оказались 79 % культур. Среди культур из реки Лососинки, озера Каменный карьер и Святозера встречались изоляты, нуждающиеся во всех анализируемых аминокислотах (21). Их количество составило 7, 6 и 14 % соответственно.

Питательные потребности эшерихий в отдельных факторах роста представлены в таблице 3. При культивировании *Escherichia coli* на

искусственных питательных средах с различным набором аминокислот обнаружены ауксотрофные варианты практически по всем аминокислотам. Так, в составе бактериопланктона Кондопожской губы не идентифицированы ауксотрофные варианты по отношению к  $\beta$ -фенил- $\beta$ -аланину, из центральной части Онего – к валину, в Неглинке – по  $\beta$ -фенил- $\beta$ -аланину и лизину. В целом можно отметить, что достоверно реже ( $p < 0,05$ ) ауксотрофные варианты встречались в Онежском озере, чем в остальных водных объектах. Так, в центральной части только по глутамину и триптофану встречаемость ауксотрофов составила больше 15 %. В составе бактериопланктона Кондопожской губы изоляты эшерихий нуждались в цистеине (61 %), потребность в аланине, аргинине, глицине, аспарагине и цистеине составила 16 %,

в норлейцине, орнитине и триптофане – 21 %. Для Петрозаводской губы Онежского озера потребность в аминокислоте чаще, чем у 15 % культур, отмечена по 11 аминокислотам. 45 % ауксотрофных культур эшерихий, выделенных из Петрозаводской губы, были зависимы от наличия в среде норлейцина. Установлено, что норлейцин является аналогом метионина [Lawrence, 1979] и может замещать его в белках [Barker, Bruton, 1979; Bogosian et al., 1989]. Кроме того, синтез норлейцина клетками *E. coli* активируется при угнетении синтаз ацетогидроксикислот [Сычева, 2008].

Близкими к вариантам из Онежского озера по уровню ауксотрофности по отдельным аминокислотам оказались культуры, выделенные из р. Неглинки. Встречаемость зависимости от фактора роста отмечена по 13 аминокислотам. Наибольшая зависимость установлена для аргинина (40 %).

Культуры в составе бактериопланктона реки Лососинки, озера Каменный карьер и Святозера характеризовались очень высоким уровнем ауксотрофности по всем анализируемым аминокислотам, значительно превышая данный параметр в ранее анализируемых водных объектах. Так, средний уровень ауксотрофности эшерихий по отдельным аминокислотам составил в Святозере 49,5 %, в Лососинке – 56,6 % и в озере Каменный карьер – 70,7 %. Для Святозера и Лососинки отмечено сходство в том, что минимально культуры, выделенные в данных водных объектах, нуждались в гистидине и аспарагиновой кислоте. Наибольшая зависимость установлена для глутамина (72 %) среди ауксотрофных вариантов в Святозере. В составе бактериопланктона реки Лососинки больше всего (81 %) культур нуждались в лейцине, лизине, серине и триптофане. Изоляты из озера Каменный карьер менее всего оказались зависимы от наличия лизина: только для 38 % культур установлена зависимость роста от присутствия лизина в среде. Максимальная встречаемость (88 %) ауксотрофных вариантов среди выделенных эшерихий из данного водоема отмечена по аспарагиновой кислоте, фенилаланину и валину. С такой же частотой (88 %) встречались ауксотрофные варианты, которые давали рост в присутствии в среде β-фенил-β-аланина.

Рассматривая встречаемость ауксотрофов среди *E. coli* в различных «фундаментальных экологических нишах» Пермской области, Р. А. Пшеничных и С. В. Колотнинов [1986] впервые предложили использовать потребность в факторах роста в качестве одного из параметров экологического мониторинга окружающей среды. Ими были обнаружены лишь отдельные

ауксотрофные варианты, выделенные из организма здоровых людей и сельскохозяйственных животных. В открытом проточном водоеме (р. Сылва), бытовых сточных водах г. Перми и промышленных стоках ауксотрофных вариантов не обнаружено [Пшеничных, Колотнинов, 1986]. Данный факт объяснялся тем, что спонтанно возникающие формы ауксотрофов могли сохраняться только в полноценной среде (организм человека и животных), а в средах с качественно и количественно обедненным составом проходила элиминация дефектных культур [Пшеничных, Колотнинов, 1986]. Однако при изучении питательных зависимостей 50 культур эшерихий, выделенных из открытого естественного водоема, находящегося в условиях минимального антропогенного воздействия, Ю. Н. Маслов и З. Л. Парамонова [1983] обнаружили одного ауксотрофа, нуждающегося в метионине. В рассматриваемых в рамках данного исследования акваториях ауксотрофные варианты выделялись в чистую культуру повсеместно. Кроме того, в водных объектах Рязанской области также выделены ауксотрофные варианты *E. coli* [Зацаринная, Круглова, 2012], а их встречаемость в целом оказалась выше (см. табл. 3), чем в водоемах Карелии.

## Выводы

Впервые оценена встречаемость ауксотрофных вариантов среди штаммов *E. coli* в составе бактериопланктона Онежского озера, рек Неглинки и Лососинки, озер Каменный карьер и Святозеро. Изучена зависимость эшерихий от 21 аминокислоты, показана перспективность использования ауксотрофных вариантов в типизации водоемов по экологическому и эпидемическому статусу. Выдвинуто предположение, что встречаемость ауксотрофов может зависеть от типа антропогенного загрязнения, интенсивности влияния хозяйственно-бытовых сточных вод на экосистему и скорость естественного самоочищения. Таким образом, данные о распространении ауксотрофности среди эшерихий позволяют обосновать использование пищевых потребностей фоновых микроорганизмов в факторах роста для целей мониторинга и более подробно охарактеризовать сапрофитическую стадию их жизненного цикла. Выявление ауксотрофных вариантов *E. coli* в различных природных средах, установление зависимости частоты и особенностей появления ауксотрофов от места выделения, пищевых потребностей диких штаммов представляет большой интерес при изучении эволюции вида в разных географических регионах.

## Литература

- Биоресурсы Онежского озера. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2008. 272 с.
- Бояринов П. М. Экологические проблемы Онежского озера в условиях возрастающей антропогенной нагрузки // Водные ресурсы Карелии и экология. Петрозаводск, 1992. С. 35–44.
- Государственный доклад о состоянии окружающей среды в Республике Карелия в 2010 году / Мин-во по природопользованию и экологии РК. Петрозаводск: ИП Андреев П. Н., 2011. 292 с.
- Государственный доклад о состоянии окружающей среды в Республике Карелия в 2011 году / Мин-во по природопользованию и экологии РК. Петрозаводск: ИП Андреев П. Н., 2012. 294 с.
- Государственный доклад о состоянии окружающей среды в Республике Карелия в 2012 году / Мин-во по природопользованию и экологии РК. Петрозаводск: Два товарища, 2013. 328 с.
- Государственный доклад о состоянии окружающей среды в Республике Карелия в 2013 году / Упр-е Росприроднадзора по РК. Петрозаводск, 2014. 300 с.
- Жуков-Вережников Н. Н., Пехов А. П. Генетика бактерий. М.: Медгиз, 1963. 458 с.
- Зацаринная Е. А., Круглова А. П. Некоторые особенности сапрофитической фазы *Escherichia coli* в водоемах Рязанской области // Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой (24–28 сентября 2012 г.): тезисы. докл. VI Всерос. конф. молодых ученых. Саратов, 2012. 31 с.
- Ивантер Э. В., Коросов А. В. Введение в количественную биологию: учеб. пособие. Петрозаводск: ПетрГУ, 2003. 302 с.
- Ильмаст Н. В., Китаев С. П., Кучко Я. А., Павловский С. А. Гидроэкология разнотипных озер Южной Карелии. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 2008. 92 с.
- Куклева Л. М., Одинокоев Г. Н., Шавина Н. Ю. и др. Сравнительный анализ питательных потребностей штаммов *Yersinia pestis* основного и неосновного подвидов и генетические причины их ауксотрофности // Проблемы особо опасных инфекций. 2013. Вып. 2. С. 33–36.
- Маслов Ю. Н., Парамонова З. Л. Изучение гетерогенности природных популяций кишечной палочки. Сообщение I. Генетические маркеры природной популяции кишечной палочки, выделенной из открытых естественных водоемов // Гетерогенность популяций микроорганизмов. Свердловск: УНЦ АН СССР, 1983. С. 9–13.
- Онежское озеро: экологические проблемы / Отв. ред. Н. Н. Филатов. Петрозаводск: КарНЦ РАН, 1999. 293 с.
- Пшеничников Р. А., Колотвинов С. В. Основы построения системы генетического мониторинга природных популяций микроорганизмов: пространственный мониторинг. Свердловск: Уральский научный центр РАН, 1986. 119 с.
- Санитарная микробиология / Ред. Г. П. Калина, Г. Н. Читович. М.: Медицина, 1969. 384 с.
- Сычева Е. В. Изучение элементов «скрытого» метаболизма 2-кетобутирата у *Escherichia coli* на примере штаммов-продуцентов аминокислот: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2008. 31 с.
- Теканова Е. В., Тимакова Т. М. Оценка современного трофического состояния Онежского озера по первичной продукции фитопланктона // Гидробиологический журнал. 2007. Т. 43, № 3. С. 90–93.
- Barker D. G., Bruton C. J. The fate of norleucine as a replacement for methionine in protein synthesis // J. of Molecular Biology. 1979. Vol. 133, No 2. P. 217–231.
- Bogosian G., Violand B. N., Dorward-King E. J. et al. Biosynthesis and incorporation into protein of norleucine by *Escherichia coli* // J. Biol. Chem. 1989. Vol. 264. P. 531–539.
- Clowes R. C., Hayes W. Experiments in microbial genetics. Oxford and Edinburgh: Blackwell scientific publications. 1968. 248 p.
- D'Souza G., Waschina S., Pande S et al. Less is more: selective advantages can explain the prevalent loss of biosynthetic genes in bacteria // Evolution. 2014. Vol. 68–69. P. 2559–257. doi: 10.1111/evo.12468.
- Giovannoni S. J., Tripp H. J., Givan S. et al. Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium // Science, 2005. Vol. 309. P. 1242–1245. doi: 10.1126/science.1114057.
- Ihssen J., Grasselli E., Bassin C. et al. Comparative genomic hybridization and physiological characterization of environmental isolates indicate that significant (eco-) physiological properties are highly conserved in the species *Escherichia coli* // Microbiology, 2007. Vol. 153, No 7. P. 2052–2066. doi: 10.1099/mic.02006/002006-0.
- Koskiniemi S., Sun S., Berg O. G., Andersson D. I. Selection-driven gene loss in bacteria // PLoS Genetics. 2012. 8: e1002787. doi: 10.1371/journal.pgen.1002787.
- Lawrence D. A. Regulation of methionine feedback-sensitive enzyme in mutants of *Salmonella typhimurium* // J. Bacteriol. 1972. Vol. 109, No 1. P. 8–11.
- Lee M.-C., Marx C. J. Repeated, selection-driven genome reduction of accessory genes in experimental populations // PLoS Genetics. 2012. 8: e1002651. doi: 10.1371/journal.pgen.1002651.
- McCutcheon J. P., Moran N. A. Parallel genomic evolution and metabolic interdependence in an ancient symbiosis // Proc Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 104, No 49. P. 19392–19397. doi: 10.1073/iti4907104.
- Morris J. J., Lenski R. E., Zinser E. R. The black queen hypothesis: evolution of dependencies through adaptive gene loss // Mbio. Vol. 3, iss. 2. e00036-12. doi: 10.1128/mBio.00036-12.
- Münster U. Concentration and fluxes of organic carbon substrates in the aquatic environment // Antonie Leeuwenhoek. 1993. Vol. 63, iss. 3–4. P. 243–274. doi: 10.1007/BF00871222.
- Ochman H., Moran N. A. Genes lost and genes found: evolution of bacterial pathogenesis and symbiosis // Science. 2001. Vol. 292, No 5519. P. 1096–1099. doi: 10.1126/science.1058543.
- van de Guchte M., Penaud S., Grimaldi C. et al. The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* extensive and ongoing reductive evolution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006. Vol. 103, No 24. P. 9274–9279. doi: 10.1073/pnas.iti2406103.

Поступила в редакцию 26.06.2015

## References

*Bioresursyi* Onezhskogo ozera [Bioresources of Onega Lake]. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 2008. 272 p.

Boyarinov P. M. Ekologicheskie problemy Onezhskogo ozera v usloviyah vozrastayushey antropogennoy nagruzki [Ecological problems of Onega Lake under increasing anthropogenic load]. *Vodnyie resursyi Karelii i ekologiya* [Water resources of Karelia and ecology]. Petrozavodsk, 1992. P. 35–44.

*Gosudarstvennyj doklad* o sostojanii okruzhajushhej sredy Respubliki Karelija v 2010 godu [State report on the condition of the environment of the Republic of Karelia in 2010]. Min-vo po prirodopol'zovaniyu i ekologii RK. Petrozavodsk: IP Andreev P. N., 2011. 292 p.

*Gosudarstvennyj doklad* o sostojanii okruzhajushhej sredy Respubliki Karelija v 2011 godu [State report on the condition of the environment of the Republic of Karelia in 2011]. Min-vo po prirodopol'zovaniyu i ekologii RK. Petrozavodsk: IP Andreev P. N., 2012. 294 p.

*Gosudarstvennyj doklad* o sostojanii okruzhajushhej sredy Respubliki Karelija v 2012 godu [State report on the condition of the environment of the Republic of Karelia in 2012]. Min-vo po prirodopol'zovaniyu i ekologii RK. Petrozavodsk: Dva tovarishha, 2013. 328 p.

*Gosudarstvennyj doklad* o sostojanii okruzhajushhej sredy Respubliki Karelija v 2013 godu [State report on the condition of the environment of the Republic of Karelia in 2013]. Min-vo po prirodopol'zovaniyu i ekologii RK. Petrozavodsk, 2014. 300 p.

Ivanter E. V., Korosov A. V. Vvedenie v kolichestvennyu biologiyu: ucheb. posobie [Introduction to quantitative biology. Manual]. Petrozavodsk: PetrSU Publ., 2003. 302 p.

Il'mast N. V., Kitaev S. P., Kuchko Ja. A., Pavlovskij S. A. Gidroekologiya raznotipnyh ozer Juzhnoj Karelii. [Hydroecology of polytypic lakes in southern Karelia]. Petrozavodsk: KarRS of RAS, 2008. 92 p.

Kukleva L. M., Odinokov G. N., Shavina N. Yu., Eroshenko G. A., Kutyrev V. V. Sravni-tel'nyj analiz pitatel'nykh potrebnostej shtammov Yersinia pestis osnovnogo i neosnovnogo podvidov i geneticheskie prichiny ikh auksotrofnosti [Comparative analysis of the nutrient requirements among Yersinia pestis strains of the main and non-main subspecies as well as genetic causes of their auxotrophy]. *Problemy osobo opasnykh infektsij* [Problems of particularly dangerous infections]. 2013. Iss. 2. P. 33–36.

Maslov Ju. N., Paramonova Z. L. Izuchenie geterogenosti prirodnyh populacij kishechnoj palochki. Soobshhenie I. Geneticheskie markery prirodnoj populacii kishechnoj palochki, vydelennoj iz otkrytyh esstvennykh vodoemov [The study of heterogeneity of natural populations of *E. coli*. Part I. Genetic markers of natural populations of *E. coli* isolated from open natural reservoirs]. *Geterogenost' populacij mikroorganizmov*. Sverdlovsk: UNC AN SSSR, 1983. P. 9–13.

*Onezhskoe ozero: jekologicheskie problemy* [Onega Lake: environmental problems]. Ed. N. N. Filatov. Petrozavodsk: KarRC of RAS, 1999. 293 p.

Pshenichnov R. A., Kolotvinov S. V. Osnovy postroeniya sistemy geneticheskogo monitoringa prirodnykh populyatsij mikroorganizmov: prostranstvennyj monitoring

[The foundations of constructing a genetic monitoring system for natural microbial populations: spatial monitoring]. Sverdlovsk: Ural'skij nauchnyj tsentr RAN, 1986. 119 p.

*Sanitarnaja mikrobiologija* [Sanitary microbiology]. Eds. G. P. Kalina, G. N. Chitovich. Moscow: Medicina, 1969. 384 p.

Sycheva E. V. Izuchenie jelementov «skrytogo» metabolizma 2-ketobutirata u *Escherichia coli* na primere shtammov-producentov aminokislot [The study of «hidden» metabolism elements of 2-ketobutyrate in amino acid producing strains]: avtoref. ... dis. kand. biol. nauk [PhD Diss. (Biol.)]. Moscow. 2008. 31 p.

Tekanova E. V., Timakova T. M. Ocenka sovremen-nogo troficheskogo sostojanija Onezhskogo ozera po pervichnoj produkcii fitoplanktona [Assessment of current trophic state of Lake Onega by primary production of phytoplankton]. *Gidrobiologicheskij zhurnal* [Hydrobiological Journal]. 2007. Vol. 43, No 3. P. 90–93.

Zhukov-Verezhnikov N. N., Pekhov A. P. Genetika bakterij [Bacterial genetics]. Moscow: Medgiz, 1963. 458 p.

Zatsarinnaya E. A., Kruglova A. P. Nekotorye osobennosti saprofiticheskoy fazy *Escherichia coli* v vodoemakh Ryazanskoj oblasti [Some features of the saprophytic phase of *Escherichia coli* in the water bodies of the Ryazan region]. Strategiya vzaimodejstviya mikroorganizmov i rastenij s okruzhajushhej sredoj (24–28 sentyabrya 2012 g.): tezisy dokl. VI Vseros. konf. molodykh uchenykh [Interaction strategy of microorganisms and plants with the environment (September 24–28, 2012). Abstr. rept. 6<sup>th</sup> All-Russian conf. of young scientists]. Saratov, 2012. 31 p.

Barker D. G., Bruton C. J. The fate of norleucine as a replacement for methionine in protein synthesis. *J. of Molecular biology*. 1979. Vol. 133, No. 2. P. 217–231.

Bogolian G., Violand B. N., Dorward-King E. J., Workman W. E., Jung P. E., Kane J. F. Biosynthesis and incorporation into protein of norleucine by *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem*. 1989. Vol. 264. P. 531–539.

Clowes R. C., Hayes W. Experiments in microbial genetics. Oxford and Edinburgh: Blackwell scientific publications. 1968. 248 p.

D'Souza G., Waschina S., Pande S., Bohl K., Kalita Ch., Kost Ch. Less is more: selective advantages can explain the prevalent loss of biosynthetic genes in bacteria. *Evolution*. 2014. Vol. 68–69. P. 2559–257. doi: 10.1111/evo.12468.

Giovannoni S. J., Tripp H. J., Givan S., Podar M., Vergin K. L., Baptista D., Bibbs L., Eads J., Richardson T. H., Noordewier M. et al. Genome streamlining in a cosmopolitan oceanic bacterium. *Science*. 2005. Vol. 309. P. 1242–1245. doi: 10.1126/science.1114057.

Ihssen J., Grasselli E., Bassin C., François P., Piffaretti J.-C., Köster W., Schrenzel J., Egli T. Comparative genomic hybridization and physiological characterization of environmental isolates indicate that significant (eco-) physiological properties are highly conserved in the species *Escherichia coli*. *Microbiology*. 2007. Vol. 153, No 7. P. 2052–2066. doi: 10.1099/mic.02006/002006-0.

Koskiniemi S., Sun S., Berg O. G., Andersson D. I. Selection-driven gene loss in bacteria. *PLoS Genetics*. 2012. 8: e1002787. doi: 10.1371/journal.pgen.1002787.

Lawrence D. A. Regulation of methionine feedback-sensitive enzyme in mutants of *Salmonella typhimurium*. *J. Bacteriol.* 1972. Vol. 109, No 1. P. 8–11.

Lee M.-C., Marx C. J. Repeated, selection-driven genome reduction of accessory genes in experimental populations. *PLoS Genetics*. 2012. 8: e1002651. doi: 10.1371/journal.pgen.1002651.

McCutcheon J. P., Moran N. A. Parallel genomic evolution and metabolic interdependence in an ancient symbiosis. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 104, No 49. P. 19392–19397. doi: 10.1073/iti4907104.

Morris J. J., Lenski R. E., Zinser E. R. The black queen hypothesis: evolution of dependencies through adaptive gene loss. *Mbio*. Vol. 3, iss. 2. e00036–12. doi: 10.1128/mBio.00036-12.

Münster U. Concentration and fluxes of organic carbon substrates in the aquatic environment. *Antonie Leeuwenhoek*. 1993. Vol. 63, iss. 3–4. P. 243–274. doi: 10.1007/BF00871222.

Ochman H., Moran N. A. Genes lost and genes found: evolution of bacterial pathogenesis and symbiosis. *Science*. 2001. Vol. 292, No 5519. P. 1096–1099. doi: 10.1126/science.1058543.

van de Guchte M., Penaud S., Grimaldi C., Barbe V., Bryson K., Nicolas P., Robert C., Oztas S., Mangenot S., Couloux A. et al. The complete genome sequence of *Lactobacillus bulgaricus* extensive and ongoing reductive evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2006. Vol. 103, No 24. P. 9274–9279. doi:10.1073/pnas.iti2406103.

Received June 26, 2015

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

### **Сидорова Наталья Анатольевна**

доцент курса микробиологии медицинского института, к. б. н.  
Петрозаводский государственный университет  
пр. Ленина, 33, Петрозаводск, Республика Карелия,  
Россия, 185910  
эл. почта: vanlis@petsu.ru  
тел.: (8142) 795318

### **Зацаринная Екатерина Андреевна**

младший научный сотрудник науч. лаб. эволюционной экологии  
Рязанский государственный университет им. С. А. Есенина  
ул. Свободы, 46, Рязань, Россия, 390000  
эл. почта: i.zatsarinniy@rsu.edu.ru  
тел.: (4912) 281936

## CONTRIBUTORS:

### **Sidorova, Natalia**

Petrozavodsk State University  
33 Lenin St., 185910 Petrozavodsk, Karelia, Russia  
e-mail: vanlis@petsu.ru  
tel.: (8142) 795318

### **Zatsarinnaya, Ekaterina**

Ryazan State University named for S. A. Yesenin  
46 Svoboda St., 390000 Ryazan, Russia  
e-mail: i.zatsarinniy@rsu.edu.ru  
tel.: (4912) 281936