

ISSN 1561-8323 (Print)
ISSN 2524-2431 (Online)

УДК 577.1+579.2+579.8

<https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-2-181-188>

Поступило в редакцию 14.09.2018

Received 14.09.2018

Л. И. Сапунова¹, академик А. Г. Лобанок¹, К. К. Яцевич², С. А. Кулиш¹,
И. О. Тамкович¹, Л. В. Ерхова¹, Е. Н. Сысолятин²

¹Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

²Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

ВЫДЕЛЕНИЕ, ХАРАКТЕРИСТИКА И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВОГО ШТАММА БАКТЕРИЙ *PAENIBACILLUS SPECIES*

Аннотация. Из зерна пшеницы, контаминированного образующей полисахарид микрофлорой, выделена и охарактеризована культура бактерий ПС-К-17. Установлено, что изолят на агаризованных средах и в глубинной культуре со специфическими субстратами синтезирует бета-галактозидазу, амилазу, протеазу, пектиназу, целлюлазу, бета-глюканазу, липазу (эстеразу), альгиназу, а также внеклеточные полисахариды и пигменты, возможно, каротиноиды. На основании культурально-морфологических и физиолого-биохимических особенностей, а также филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК (код доступа MF443394 в GenBank) бактериальная культура идентифицирована как *Paenibacillus species* ПС-К-17. Исследуемый изолят образует одну филогенетическую ветвь с типовыми штаммами *Paenibacillus nicotianae* (98,3 %), *Paenibacillus hordei* (98,2 %), *Paenibacillus kyungheensis* (97,9 %), в пределах которой занимает обособленное положение. Штамм *Paenibacillus sp.* ПС-К-17 может найти применение в биотехнологии как продуцент внеклеточных полисахаридов и ферментов, расщепляющих растительные полимеры, а также как компонент микробного консорциума в составе новой кормовой добавки комплексного действия.

Ключевые слова: бактерии, выделение, внеклеточные ферменты, полисахариды, биосинтез, физиолого-биохимические особенности, нуклеотидные последовательности, ген 16S рРНК, идентификация, *Paenibacillus species*

Для цитирования: Выделение, характеристика и молекулярно-генетическая идентификация нового штамма бактерий *Paenibacillus species* / Л. И. Сапунова [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 2. – С. 181–188. <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-2-181-188>

Leanida I. Sapunova¹, Academician Anatoli G. Lobanok¹, Kanstantsyia K. Yatsevich², Sviatlana A. Kulish¹,
Iryna A. Tamkovich¹, Liudmila V. Yarkhova¹, Yaugen M. Sysaliatsin²

¹Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

SCREENING, CHARACTERIZATION AND MOLECULAR-GENETIC IDENTIFICATION OF A NEW BACTERIAL STRAIN *PAENIBACILLUS SPECIES*

Abstract. Bacterial variant PS-K-17 was isolated from wheat grain contaminated by polysaccharide-producing microbiota for further characterization. It was found that the isolate grown on agar slants and in submerged culture on media with specific substrates synthesized beta-galactosidase, amylase, protease, pectinase, cellulase, beta-glucanase, lipase (esterase), alginase, extracellular polysaccharides, and pigments, probably carotenoids. Based on cultural-morphological and physiological-biochemical properties and phylogenetic analysis of nucleotide sequences of 16S rRNA gene (access code MF443394 in GenBank) the bacterial culture was identified as *Paenibacillus species* PS-K-17. The studied isolate forms one phylogenetic branch with type strains *Paenibacillus nicotianae* (98.3 %), *Paenibacillus hordei* (98.2 %), *Paenibacillus kyungheensis* (97.9 %), holding wherein a separate position. Strain *Paenibacillus sp.* PS-K-17 may find use in biotechnology as a producer of extracellular polysaccharides and enzymes splitting plant polymeric substances as well as a component of microbial consortium-ingredient of a new complex feed additive.

Keywords: bacteria, screening, extracellular enzymes, polysaccharides, biosynthesis, physiological-biochemical features, nucleotide sequences, 16S rRNA gene, identification, *Paenibacillus sp.*

For citation: Sapunova L. I., Lobanok A. G., Yatsevich K. K., Kulish S. A., Tamkovich I. A., Yarkhova L. V., Sysaliatsin Y. M. Screening, characterization and molecular-genetical identification of a new bacterial strain *Paenibacillus species*. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2019, vol. 63, no. 2, pp. 181–188 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1561-8323-2019-63-2-181-188>

Введение. В 1993 г. английскими исследователями С. Ash, F. G. Priest, M. D. Collins штаммы бактерий *Bacillus polytuxa* на основании ряда фенотипических свойств и состава нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК были реклассифицированы и в качестве типовых включены

в новый род *Paenibacillus* (*paeni* – почти, в переводе с лат.) [1]. Позднее (1997 г.) результаты секвенирования указанного гена и определения жирнокислотного состава клеток бактерий дали основание японским ученым причислить еще 6 видов бацилл (*B. alginolyticus*, *B. chondroitinus*, *B. curdlanolyticus*, *B. glucanolyticus*, *B. kobensis*, *B. thiaminolyticus*) к новой систематической группе и дополнить ее описание новыми признаками [2]. В настоящее время род *Paenibacillus* насчитывает около 200 представителей [3], постоянно пополняется, в том числе новыми видами [4–6].

Представители рода *Paenibacillus* широко распространены в природе, обычно выделяются из различных источников, включая воду и почву различных географических зон, ризосферу растений, их вегетативные и репродуктивные органы, некротические раны животных и человека [6]. Некоторые виды рода *Paenibacillus* вызывают оппортунистические инфекции людей, а *Paenibacillus larvae* – заболевание пчел, которое часто приводит к гибели пчелиных семей. Отдельные представители этой группы микроорганизмов вызывают порчу пастеризованных молочных продуктов [3; 7]. В то же время многие виды этого рода являются стимуляторами роста растений благодаря фиксации азота, солибилизации фосфатов, продукции фитогормонов, секреции сидерофоров [3]. Они синтезируют разнообразные вещества антимикробного и инсектицидного действия, экзополисахариды и ферменты, что открывает перспективу их использования в технологиях производства лекарственных препаратов, средств стимуляции роста растений и защиты их от патогенов, биоудобрений, продуктов питания и кормов, текстильных изделий, косметики, бумаги, детергентов, биотоплива, а также в природоохранных биотехнологиях.

Целью настоящего исследования явились выделение, характеристика и идентификация нового бактериального штамма – продуцента комплекса биологически активных веществ, включающих внеклеточные полисахариды.

Материалы и методы исследования. Для скрининга продуцирующих полисахариды микроорганизмов использовали зерно пшеницы урожая 2016 г. Для этого зерновой субстрат (1 г/10 мл стерильного физиологического раствора) гидратировали (26–28 °С, 2 ч) при постоянном перемешивании, после чего отделяли фильтрованием в асептических условиях. Из фильтрата чистые культуры контаминирующего зерно микроорганизмов выделяли методом Дригальского на агаризованной среде Сабуро. Условия культивирования – 26–28 °С в течение 96 ч.

Отбор продуцирующих полисахариды микроорганизмов проводили визуально по характерной вязкой консистенции их колоний.

Ферментативную активность отобранного изолята ПС-К-17 определяли чашечным методом на агаризованной среде Лурия–Бертани, содержащей субстраты соответствующих ферментов, при 26–28 °С в течение 72 ч.

На свойство микробных культур синтезировать протеазу, амилазу, ксиланазу, бета-глюканазу, целлюлазу, фитазу, липазу, пектатлиазу, бета-галактозидазу, альгиназу указывали наличие и размер (мм) зон просветления или зон специфического окрашивания конечных продуктов ферментативных реакций вокруг их колоний, образующихся в результате гидролиза соответствующих субстратов в присутствии индикаторов. О продукции бета-галактозидазы судили по синей окраске колоний микроорганизмов, выросших на среде с 5-бром-4-хлор-3-индолил-β-D-галактопиранозидом в качестве хромогенного субстрата.

Исследование культурально-морфологических и физиолого-биохимических особенностей отобранного штамма ПС-К-17 проводили общепринятыми методами.

Молекулярно-генетическую идентификацию штамма ПС-К-17 проводили методом сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Для этого геномную ДНК выделяли с использованием набора реагентов для выделения ДНК «Нуклеосорб» (Праймтех, Беларусь), придерживаясь рекомендаций производителя. Матрицу для секвенирования синтезировали ПЦР-методом, используя праймеры 27f (5' GAGTTTGATCCTGGCTCAG 3') и rD1 (5' AGAAAGGAGGT GATCCAGCC 3').

Реакционная смесь (30 мкл) содержала: 3 мкл 10х реакционного буфера (Диалат Лтд., Россия), 1,5 мМ MgCl₂, 0,2 мМ каждого из дезоксирибонуклеозидтрифосфатов, по 30 пкмоль каждого из праймеров, 1 единицу активности *Taq*-полимеразы (Диалат Лтд., Россия) и 15 нг геномной ДНК в качестве матрицы.

ПЦР проводили в термоциклере MJ Mini™ (BioRad, США). Реакцию инициировали инкубированием смеси при 95 °С в течение 4 мин, затем следовало 30 циклов, выполняемых в следующих условиях: 94 °С – 30 с, 55 °С – 30 с, 72 °С – 2 мин. Завершающую элонгацию проводили при 72 °С в течение 7 мин. Продукты амплификации разделяли в 1 %-ном агарозном геле. Фрагмент размером около 1,5 т. п. н. вырезали, а затем очищали с использованием набора Agarose Gel Extraction Kit (Jena Bioscience, Германия) согласно инструкциям производителя.

Секвенирование фрагмента гена 16S рРНК идентифицируемого штамма ПС-К-17 проводили на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США), придерживаясь рекомендаций производителя. При проведении «секвенирующей ПЦР», помимо праймеров 27f и rD1, использовали «внутренние» праймеры 536f (5' CAGCMGCCGCGGTAATWC 3') и 960r (5' GCTTGTGCGGGYCCCCG 3'). Полученные в результате секвенирования данные обрабатывали с использованием программы Sequencing Analysis Software v5.2 (Applied Biosystems, США).

Поиск гомологичных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК осуществляли с помощью программы BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) в базе данных GenBank Национального центра биотехнологической информации США [8]. Филогенетический анализ проводили с помощью программы MEGA4 [9], используя алгоритм «объединения соседей».

Приведенные результаты представляют собой усредненные данные 2–3 опытов, выполненных в трех повторностях и статистически обработанных с использованием компьютерных программ из пакета Microsoft Windows.

Результаты и их обсуждение. Свойство синтезировать внеклеточные полисахариды широко распространено у бактерий рода *Paenibacillus*, среди которых штаммы *P. polymyxa* EJS-3 и *P. polymyxa* ATCC 21830 известны как промышленные продуценты левана и курдлана [7]. Для представителей этой группы микроорганизмов характерно использование в качестве источников углеродного питания углеводов различного химического строения, в том числе полисахаридов, что возможно при условии синтеза бактериями соответствующих деполимераз. В последние годы выявлены новые штаммы бактерий рода *Paenibacillus*, продуцирующие хитиназу [10], пуллуланазу [11], бета-агаразу [12], липазу [13], бифункциональную ксиланазу/бета-глюканазу [14], бета-галактозидазу [15], альфа-амилазу [16], пектиназу [17] и др.

Из зерна пшеницы, контаминированного образующей полисахарид микрофлорой (рис. 1), нами по признаку образования вязких растекающихся колоний на агаризованной среде Лурия–Бертани с высоким содержанием лактозы выделена чистая культура бактерий ПС-К-17 (рис. 2).

Изолят ПС-К-17 – это грамположительные, факультативно анаэробные, образующие эллипсоидальные эндоспores, подвижные палочки с перитрихально расположенными жгутиками, растет в диапазоне температуры 5–39 °С и исходной активной кислотности среды, соответствующей рН 5–11, с оптимумом при температуре 30 °С и рН 6,0.



Рис. 1. Основные морфологические типы микроорганизмов, обнаруженных на зерне пшеницы (агаризованная среда Сабуро)

Fig. 1. The main morphological types of microorganisms detected on wheat grains (Sabouraud agar medium)

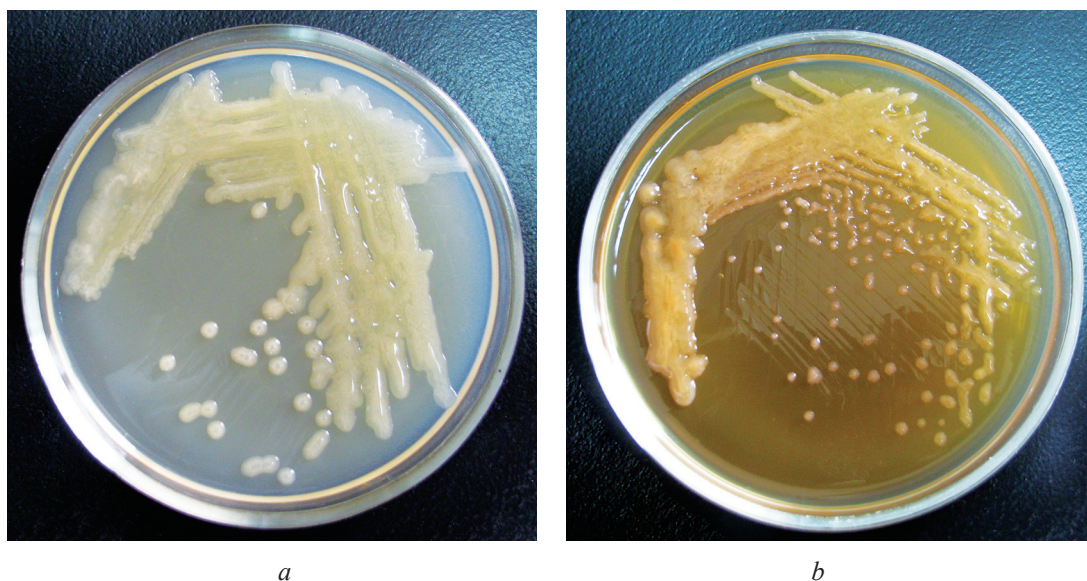


Рис. 2. Колонии изолята ПС-К-17 на агаризованных средах Сабуро (а) и Лурия–Бертани с лактозой (b)
 Fig. 2. Colonies of PS-K-17 isolate on Sabouraud agar (a) and Luria–Bertani agar media with lactose (b)

На 3 сут роста на агаризованной среде Сабуро штамм образует слизистые колонии размером 4–5 мм бежевого цвета, со временем приобретающие розовый оттенок, неправильно круглой формы, выпуклые, гладкие, с ровным краем, вязкой консистенции.

На 3 сут роста на агаризованной среде Лурия–Бертани с лактозой (10 %) бактерии формируют колонии 2–3 мм в диаметре, выпуклые, вязкие, гладкие, сначала бежевого, а затем бежево-розового цвета, с ровными краями.

Изолят ПС-К-17 молоко не пептонизирует, желатин разжижает.

Ассимилирует глюкозу, фруктозу, галактозу, маннозу, маннит, лактозу, мальтозу, сахарозу, глицерин, крахмал, пектин, натрий-казеинат, бета-глюкан, натрий-карбоксиметилцеллюлозу, натрий-альгинат, твин-80, глицерилтрибутират (трибутирин).

На агаризованных средах со специфическими субстратами и в глубинной культуре синтезирует бета-галактозидазу, амилазу, протеазу, пектиназу, целлюлазу, бета-глюканазу, липазу (эстеразу), альгиназу, а также внеклеточные полисахариды и, возможно, каротиноидные пигменты.

Для установления таксономической принадлежности штамма ПС-К-17 проведен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. В результате выполненных молекулярно-генетических исследований определена и депонирована в GenBank (код доступа MF443394) следующая нуклеотидная последовательность указанного гена протяженностью 1462 п. о.:

```

1      tgcaagtcga gcgagtgga ygagaagctt gcttctcgga tgcttagcgg cggacgggtg
61     agtaacacgt aggcaactg ccctcaagct tgggacaact accggaacg gtagctaata
121    ccgaatacat gattgttcg cctgaacgaa ttggaaaga cggagcaatc tgtcactga
181    ggatgggctc gcggcgatt agctagtgg tgagtaacg gctaccaag gcgacgatgc
241    gtagccgacc tgagagggtg atcgccaca ctgggactga gacacggccc agactcctac
301    gggaggcagc agtagggaat ctccgcaat ggacgcaagt ctgacggagc aacgccgctg
361    gagtgatgaa ggttttcgga tcgtaaagct ctgtgccag ggaagaacgt cggatagagt
421    aactgctatc ggagtacgg tacctgagaa gaaagccccg gctaactacg tgccagcagc
481    cgcggtaata cgtagggggc aagcgtgtc cggattatt gggcgtaaag cgcgcgagg
541    cggctttta agtccgggtg cacagccca ggctcaacct tgggtcgac tggaactgg
601    agacttgag tacagaagag gaaagtggaa ttccacgtgt agcggtgaaa tgcgtagaga
661    tgtggaggaa caccagtggc gaaggcgact ttctgggctg taactgacgc tgaggcgcga
721    aagcgtgggg agcaacagg attagatacc ctggtagtcc acgccgtaa cgatgaatgc
781    taggtgtag gggtttcgat acccttggtg ccgaagtta cacattaagc attccgctg
  
```

841 gggagtacgg tcgcaagact gaaactcaaa ggaattgacg gggaccgca caagcagtgg
 901 agtatgtggt ttaattcga gcaacgcgaa gaaccttacc aagtcttgac atcccttga
 961 ccggactaga gatagtctt tccttcggga caaaggagac aggtggtgca tggttgctgt
 1021 cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct tatgcttagt
 1081 tgccagcaca tcatgggtggg cactctaagc agactgccgg tgacaaaccg gaggaagggt
 1141 gggatgacgt caaatcatca tgccccctat gacttgggct acacacgtac tacaatggcc
 1201 ggtacaacgg gaagcaatat cgcaagatgg agccaatcct taaaagccgg tctcagttcg
 1261 gattgcagcg tgcaactcgc ctgcatgaag tcggaattgc tagtaatcgc ggatcagcat
 1321 gccgcggtga atacgtccc gggcttggta cacaccgcc gtcacaccac gagagtgtgc
 1381 aacaccgaa gtcggtgggg taacctgcaa aggagccagc cgccaaggt ggggtgatg
 1441 attggggtga agtcgtaaca ag

Результат BLAST-поиска в упомянутой базе данных показал, что ген 16S рРНК исследуемого изолята действительно имел наибольшую степень сходства с соответствующими генами бактерий рода *Paenibacillus*.

При попарном сравнении нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК установлено их максимальное сходство у исследуемого штамма ПС-К-17 и типовых штаммов *Paenibacillus nicotiana* (98,3 %), *P. hordei* (98,2 %), *P. kyungheensis* (97,9 %) (таблица).

Сходство (%) нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК изолята ПС-К-17 и близкородственных бактерий из базы данных GenBank

Similarity (%) of nucleotide sequences of 16S rRNA gene of the isolate PS-K-17 and closely related bacteria from GenBank

Штамм бактерий (номер доступа в GenBank) Bacterial strain (access code in GenBank)	Сходство нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК, % Similarity of nucleotide sequences of 16S rRNA genes, %
<i>Paenibacillus nicotiana</i> YIM h-19 ^T (NR_134783)	98,3
<i>Paenibacillus hordei</i> RH-N24 ^T (NR_109318)	98,2
<i>Paenibacillus kyungheensis</i> DCY88 ^T (NR_145628)	97,9
<i>Paenibacillus illinoisensis</i> JCM 9907 ^T (NR_040884)	95,0
<i>Paenibacillus wulumuqiensis</i> Y24 ^T (NR_136854)	95,0
<i>Paenibacillus peoriae</i> DSM 8320 ^T (NR_117740)	94,8
<i>Paenibacillus xylanilyticus</i> XIL14 ^T (NR_029109)	94,8
<i>Paenibacillus hunanensis</i> FeL05 ^T (NR_116440)	94,6
<i>Paenibacillus polymyxa</i> DSM 36 ^T (NR_117727)	94,5
<i>Paenibacillus tundrae</i> A10b ^T (NR_044525)	94,5
<i>Paenibacillus kribbensis</i> AM49 ^T (NR_025169)	94,4

Уровень сходства нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК у представителей других близкородственных видов рода *Paenibacillus* (*P. illinoisensis*, *P. wulumuqiensis*, *P. peoriae*, *P. xylanilyticus*, *P. hunanensis*) составлял 95 % и менее.

Филогенетический анализ, учитывающий степень сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК, выявил наибольшую близость изолята ПС-К-17 с типовыми штаммами *Paenibacillus nicotiana*, *P. hordei* и *P. kyungheensis* (рис. 3).

Установленное значение бутстрапа (100) для всего сформированного кластера свидетельствует о статистической достоверности кластерирования. Однако в пределах данной ветви штамм ПС-К-17 расположен обособленно от группы *P. nicotiana*–*P. hordei*–*P. kyungheensis*.

Принимая во внимание результаты филогенетического анализа и достаточно высокий уровень межвидового полиморфизма нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК в пределах данного кластера (до 1,7–2,3 %) штамм ПС-К-17 можно идентифицировать лишь до рода, а именно как *Paenibacillus* sp. ПС-К-17, близкородственный группе видов *P. nicotiana*–*P. hordei*–*P. kyungheensis*. Требуется дополнительные хемотаксономические исследования, которые позволят уточнить видовую принадлежность *Paenibacillus* sp. ПС-К-17 – отнести его к одному из известных видов или признать его новым.

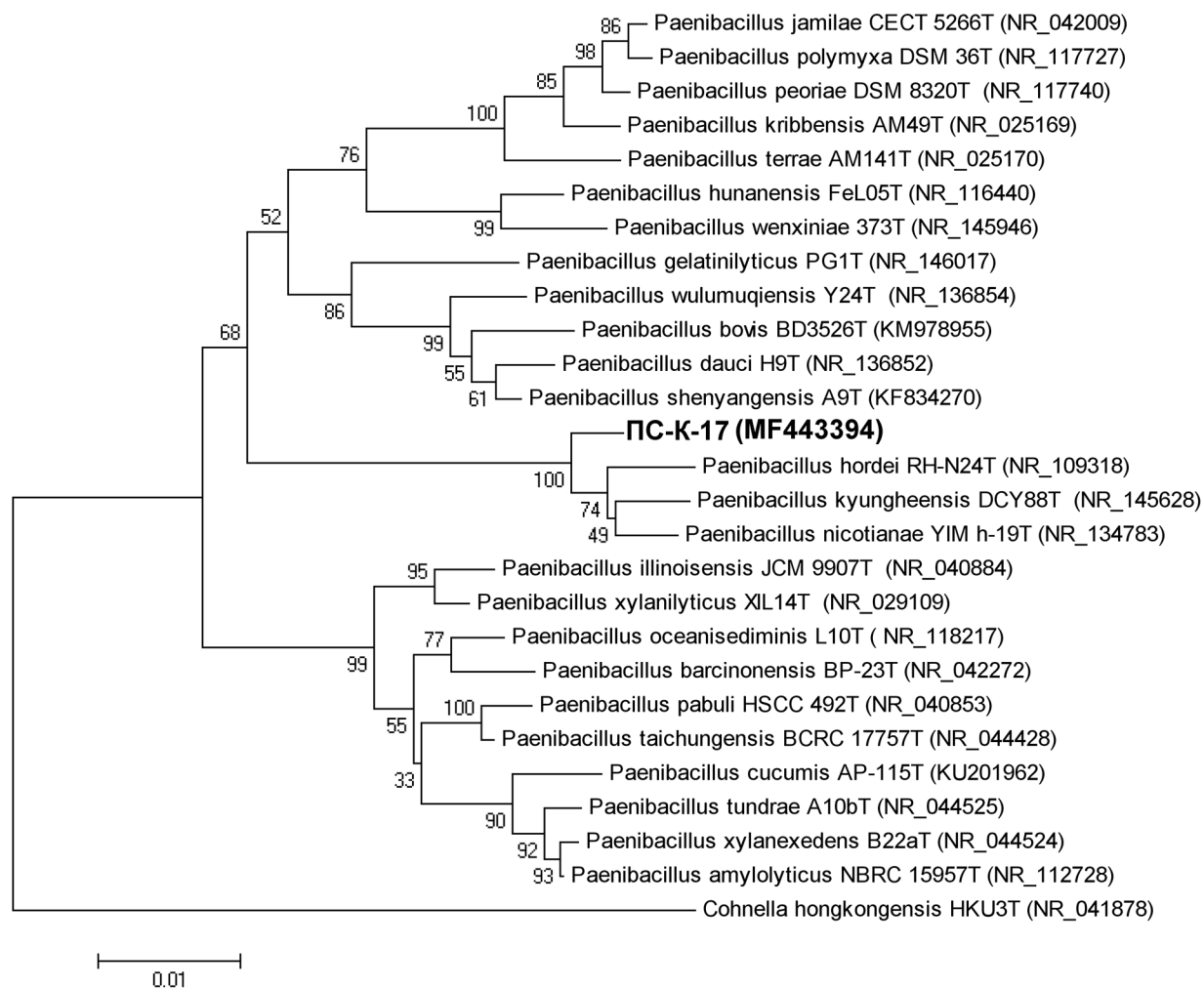


Рис. 3. Филогенетическое древо, отражающее родство изолята ПС-К-17 и близкородственных видов рода *Paenibacillus*: в скобках приведены номера доступа последовательностей в GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov). Блок сравнения содержит 1368 нуклеотидов. Значения бутстрапа вычислены на основании анализа 1000 деревьев. Линейка соответствует 0,01 заменам на нуклеотидную позицию

Fig. 3. Phylogenetic tree showing the relatedness between the strain PS-K-17 and the closely related type strains of the genus *Paenibacillus*: the GenBank accession numbers of the sequences are given in parentheses (www.ncbi.nlm.nih.gov). There are 1368 nucleotides in the comparison dataset. Bootstrap values were calculated based on 1000 resamplings. Scale bar, 0.01 substitution per nucleotide position

Заклучение. На основании результатов культурально-морфологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических исследований штамм бактерий ПС-К-17 идентифицирован как *Paenibacillus* species. Штамм *Paenibacillus* sp. ПС-К-17 продуцирует полисахариды и ферменты, гидролизующие растительные полимеры, что обуславливает перспективность его использования в биотехнологии получения указанных биологически активных веществ. Штамм *Paenibacillus* sp. ПС-К-17 также планируется использовать как один из компонентов сложного консорциума микроорганизмов в составе новой кормовой добавки полифункционального назначения.

Список использованных источников

- Ash, C. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. Proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus* / C. Ash, F. G. Priest, M. D. Collins // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 1993. – Vol. 64, N 3–4. – P. 253–260. <https://doi.org/10.1007/bf00873085>
- Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus chondroitinus*, *Bacillus curdlanolyticus*, *Bacillus glucanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus *Paenibacillus* and emended description of the genus *Paenibacillus* / O. Shida [et al.] // *Int. J. Syst. Bacteriol.* – 1997. – Vol. 47, N 2. – P. 289–298. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-289>

3. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review / E. N. Grady [et al.] // *Microb. Cell Fact.* – 2016. – Vol. 15, N 1. – P. 203. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7>
4. *Paenibacillus hordei* sp. nov., isolated from naked barley in Korea / J. M. Kim [et al.] // *Antonie Van Leeuwenhoek.* – 2013. – Vol. 103, N 1. – P. 3–9. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9775-2>
5. *Paenibacillus nicotianae* sp. nov., isolated from a tobacco sample / Q. Q. Li [et al.] // *Antonie Van Leeuwenhoek.* – 2014. – Vol. 106, N 6. – P. 1199–1205. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0289-y>
6. *Paenibacillus kyungheensis* sp. nov., isolated from flowers of magnolia / M. Z. Siddiqi [et al.] // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2015. – Vol. 65, N 11. – P. 3959–3964. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000521>
7. Liang, T.-W. Recent advances in exopolysaccharides from *Paenibacillus* spp.: production, isolation, structure, and bioactivities / T.-W. Liang, S.-L. Wang // *Mar. Drugs.* – 2015. – Vol. 13, N 4. – P. 1847–1863. <https://doi.org/10.3390/md13041847>
8. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [Electronic resource]. – Mode of access: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. – Date of access: 12.02.2018.
9. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 / K. Tamura [et al.] // *Mol. Biol. Evol.* – 2007. – Vol. 24, N 8. – P. 1596–1599. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>
10. A process for complete biodegradation of shrimp waste by a novel marine isolate *Paenibacillus* sp. AD with simultaneous production of chitinase and chitin oligosaccharides / A. Kumar [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2018. – Vol. 109. – P. 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.024>
11. Gene cloning, functional expression and characterisation of a novel type I pullulanase from *Paenibacillus barengoltzii* and its application in resistant starch production / J. Liu [et al.] // *Protein Expr. Purif.* – 2016. – Vol. 121. – P. 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2015.12.020>
12. Purification and characterization of a novel β -agarase of *Paenibacillus* sp. SSG-1 isolated from soil / T. Song [et al.] // *J. Biosci. Bioeng.* – 2014. – Vol. 118, N 2. – P. 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.02.008>
13. Cloning, overexpression, and characterization of a novel organic solvent-tolerant lipase from *Paenibacillus pasadenensis* CS0611 / J. Gao [et al.] // *Chinese J. Catal.* – 2018. – Vol. 39, N 5. – P. 937–945. [https://doi.org/10.1016/s1872-2067\(18\)63033-5](https://doi.org/10.1016/s1872-2067(18)63033-5)
14. The family 22 carbohydrate-binding module of bifunctional xylanase/ β -glucanase Xyn10E from *Paenibacillus curd-lanolyticus* B-6 has an important role in lignocellulose degradation / J. Sermsathanaswadi [et al.] // *Enzyme Microb. Technol.* – 2017. – Vol. 96. – P. 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.09.015>
15. Biochemical characterization of a novel β -galactosidase from *Paenibacillus barengoltzii* suitable for lactose hydrolysis and galactooligosaccharides synthesis / Y. Liu [et al.] // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2017. – Vol. 104, pt. A. – P. 1055–1063. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.073>
16. Purification and characterization of a novel intracellular α -amylase with a wide variety of substrates hydrolysis and transglycosylation activity from *Paenibacillus* sp. SSG-1 / Q. Xu [et al.] // *Protein Expr. Purif.* – 2018. – Vol. 144. – P. 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2016.04.007>
17. Identification and characterization of a pectinolytic enzyme from *Paenibacillus xylanolyticus* / S. Giacobbe [et al.] // *BioResour.* – 2014. – Vol. 9, N 3. – P. 4873–4887. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.4873-4887>

References

1. Ash C., Priest F. G., Collins M. D. Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks and Collins) using a PCR probe test. Proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 1993, vol. 64, no. 3–4, pp. 253–260. <https://doi.org/10.1007/bf00873085>
2. Shida O., Takagi H., Kadowaki K., Nakamura L. K., Komagata K. Transfer of *Bacillus alginolyticus*, *Bacillus chondroitinus*, *Bacillus curd-lanolyticus*, *Bacillus glucanolyticus*, *Bacillus kobensis*, and *Bacillus thiaminolyticus* to the genus *Paenibacillus* and emended description of the genus *Paenibacillus*. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1997, vol. 47, no. 2, pp. 289–298. <https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-289>
3. Grady E. N., MacDonald J., Liu L., Richman A., Yuan Z.-C. Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial Cell Factories*, 2016, vol. 15, no. 1, pp. 203. <https://doi.org/10.1186/s12934-016-0603-7>
4. Kim J. M., Lee S. H., Lee S. H., Choi E. J., Jeon C. O. *Paenibacillus hordei* sp. nov., isolated from naked barley in Korea. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013, vol. 103, no. 1, pp. 3–9. <https://doi.org/10.1007/s10482-012-9775-2>
5. Li Q. Q., Zhou X. K., Dang L. Z., Cheng J., Hozzein W. N., Liu M. J., Hu Q., Li W. J., Duan Y. Q. *Paenibacillus nicotianae* sp. nov., isolated from a tobacco sample. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2014, vol. 106, no. 6, pp. 1199–1205. <https://doi.org/10.1007/s10482-014-0289-y>
6. Siddiqi M. Z., Siddiqi M. H., Im W. T., Kim Y. J., Yang D. C. *Paenibacillus kyungheensis* sp. nov., isolated from flowers of magnolia. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, vol. 65, no. 11, pp. 3959–3964. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000521>
7. Liang T.-W., Wang S.-L. Recent advances in exopolysaccharides from *Paenibacillus* spp.: production, isolation, structure, and bioactivities. *Marine Drugs*, 2015, vol. 13, no. 4, pp. 1847–1863. <https://doi.org/10.3390/md13041847>
8. BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (2018). Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed 12 February 2018).
9. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, vol. 24, no. 8, pp. 1596–1599. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>
10. Kumar A., Kumar D., George N., Sharma P., Gupta N. A process for complete biodegradation of shrimp waste by a novel marine isolate *Paenibacillus* sp. AD with simultaneous production of chitinase and chitin oligosaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, vol. 109, pp. 263–272. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.12.024>

11. Liu J., Liu Y., Yan F., Jiang Z., Yang S., Yan Q. Gene cloning, functional expression and characterisation of a novel type I pullulanase from *Paenibacillus barengoltzii* and its application in resistant starch production. *Protein Expression and Purification*, 2016, vol. 121, pp. 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2015.12.020>
12. Song T., Cao Y., Xu H., Zhang W., Fei B., Qiao D., Cao Y. Purification and characterization of a novel β -agarase of *Paenibacillus* sp. SSG-1 isolated from soil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, vol. 118, no. 2, pp. 125–129. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.02.008>
13. Gao J., Ou X., Xu P., Zong M., Lou W. Cloning, overexpression, and characterization of a novel organic solvent-tolerant lipase from *Paenibacillus pasadenensis* CS0611. *Chinese Journal of Catalysis*, 2018, vol. 39, no. 5, pp. 937–945. [https://doi.org/10.1016/s1872-2067\(18\)63033-5](https://doi.org/10.1016/s1872-2067(18)63033-5)
14. Sermsathanaswadi J., Baramée S., Tachaapaikoon C., Pason P., Ratanakhanokchai K., Kosugi A. The family 22 carbohydrate-binding module of bifunctional xylanase/ β -glucanase Xyn10E from *Paenibacillus curdlanolyticus* B-6 has an important role in lignocellulose degradation. *Enzyme and Microbial Technology*, 2017, vol. 96, pp. 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.09.015>
15. Liu Y., Chen Z., Jiang Z., Yan Q., Yang S. Biochemical characterization of a novel β -galactosidase from *Paenibacillus barengoltzii* suitable for lactose hydrolysis and galactooligosaccharides synthesis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, vol. 104, pt. A, pp. 1055–1063. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.06.073>
16. Xu Q., Cao Y., Li X., Liu L., Qin S., Wang Y., Cao Y., Xu H., Qiao D. Purification and characterization of a novel intracellular α -amylase with a wide variety of substrates hydrolysis and transglycosylation activity from *Paenibacillus* sp. SSG-1. *Protein Expression and Purification*, 2018, vol. 144, pp. 62–70. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2016.04.007>
17. Giacobbe S., Pepe S., Ventorino V., Birolo L., Vinciguerra R., Faraco V. Identification and characterisation of a pectinolytic enzyme from *Paenibacillus xylanolyticus*. *BioResources*, 2014, vol. 9, no. 3, pp. 4873–4887. <https://doi.org/10.15376/biores.9.3.4873-4887>

Информация об авторах

Сапунова Леонида Ивановна – канд. биол. наук, доцент, гл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: leonida@mbio.bas-net.by.

Лобанок Анатолий Георгиевич – академик, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: aglobanok@gmail.com.

Яцевич Констанция Константиновна – науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220027, Минск, Республика Беларусь). E-mail: yakon-kon@yandex.ru.

Кулиш Светлана Анатольевна – ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: kulish76@mail.ru.

Тамкович Ирина Олеговна – канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: irina-kazakevich@tut.by.

Ерхова Людмила Викторовна – мл. науч. сотрудник. Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. Купревича, 2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: milka1288@mail.ru.

Сысолятин Евгений Николаевич – мл. науч. сотрудник. Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220027, Минск, Республика Беларусь). E-mail: meeugeny@yandex.ru.

Information about the authors

Sapunova Leanida Ivanovna – Ph. D. (Biology), Chief researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: leonida@mbio.bas-net.by.

Lobanok Anatoli Georgievich – Academician, D. Sc. (Biology), Head of the Laboratory. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: aglobanok@gmail.com.

Yatsevich Kanstantsya Kanstantsynauna – Researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220027, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: yakon-kon@yandex.ru.

Kulish Sviatlana Anatolievna – Senior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kulish76@mail.ru.

Tamkovich Iryna Alehauna – Ph. D. (Biology), Senior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: irina-kazakevich@tut.by.

Yarkhova Liudmila Viktarauna – Junior researcher. Institute of Microbiology of the National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: milka1288@mail.ru.

Sysaliatsin Yauhen Mikalaevich – Junior researcher. Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220027, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: meeugeny@yandex.ru.