

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

СЕМЬ НОВЫХ ВИДОВ АКТИНОМИЦЕТОВ РОДА *KRIBBELLA* С УНИКАЛЬНЫМИ ПОЛИМЕРАМИ КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКИ И ДОПОЛНЕННОЕ И ИСПРАВЛЕННОЕ ОПИСАНИЕ РОДА *KRIBBELLA*¹

© 2023 г. А. Н. Автух^{a, *}, Е. В. Арискина^a, Л. М. Барышникова^a, Е. М. Тульская^b,
Н. В. Потехина^b, А. С. Пашков^c, Н. Е. Сузина^a, Н. В. Присяжная^a, И. П. Стародумова^a,
О. В. Василенко^a, Л. В. Дорофеева^a, Л. И. Евтушенко^a

^aВсероссийская коллекция микроорганизмов (ВКМ), Институт биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г.К. Скрыбина РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино, Московская обл., 142290 Россия

^bМосковский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, 119234 Россия

^cИнститут органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН, Москва, 119991 Россия

*e-mail: avtukh@rambler.ru

Поступила в редакцию 02.05.2023 г.

После доработки 20.05.2023 г.

Принята к публикации 22.05.2023 г.

Семь изученных штаммов актиномицетов, отнесенных к новым видам рода *Kribbella*, были выделены из почв различных регионов России. Уровень сходства новых штаммов между собой и с типовыми штаммами известных видов этого рода по генам 16S рРНК 98.2–99.3 и 96.2–99.7% соответственно. Эволюционные расстояния на основе конкатенированных фрагментов генов *gyrB*–*rpoB*–*recA*–*relA*–*atpD* (4108 п.н.) для изученных штаммов и типовых штаммов известных видов были в диапазоне значений, вычисленных для описанных видов *Kribbella* (0.014–0.101). Значения dDDH и ANI между изученными и типовыми штаммами известных видов, для которых имеются данные по последовательностям геномов, не превышали 49.8 и 92.6% соответственно, что ниже границ прокариотных видов. Представители выявленных новых видов характеризуются индивидуальными фенотипическими профилями. У отдельных видов обнаружены (впервые у криббелл) спорангиеподобные структуры, до 4 мкм в диаметре. Клеточные стенки изученных штаммов содержат специфичные для видов или групп видов тейхуроновые и/или тейхулозоновые кислоты, структуры которых ранее не были описаны у прокариот. У всех изученных штаммов обнаружен уникальный разветвленный α-маннан. На основании результатов настоящего исследования и ранее опубликованных данных предложены описания семи новых видов: *Kribbella orskensis* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2538^T), *Kribbella rubisoli* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2540^T), *Kribbella antiqua* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2541^T), *Kribbella kalugense* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2570^T), *Kribbella steppae* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2572^T), *Kribbella pratae* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2574^T), *Kribbella voronezhensis* sp. nov. (типовой штамм ВКМ Ac-2575^T), а также дополненное и исправленное описание рода *Kribbella*.

Ключевые слова: род *Kribbella*, новые виды, геном, хемотаксономия, гликополимеры клеточной стенки

DOI: 10.31857/S0026365623600220, **EDN:** JRFOKA

Род *Kribbella* (семейство *Kribbellaceae*, порядок *Actinomycetales*) в настоящее время включает 33 валидно описанных вида, выделенных преимущественно из почв и растений (<https://lpsn.dsmz.de/genus/kribbella>). Криббеллы формируют ветвящиеся вегетативные и воздушные гифы, распадающиеся на неподвижные фрагменты различных размеров, на концевых участках воздушных гиф встре-

чаются короткие цепочки спор. Содержат LL-диаминопимелиновую кислоту (LL-ДАП) в клеточной стенке, доминирующие жирные кислоты — *anteiso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0} и *anteiso*-C_{17:0}, фосфолипиды III типа (фосфатидилхолин в качестве диагностического компонента) и преобладающий менахинон МК-9(H₄) (Park et al., 1999; Sohn et al., 2003). Виды рода имеют высокий уровень сходства нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК — до 99.7%. Последовательности геномов определены для 16 из 33 признанных видов (Curtis et al., 2020; Meyers, 2021).

¹ Дополнительная информация для этой статьи доступна по doi 10.31857/S0026365623600220 для авторизованных пользователей.

Для обоснования принадлежности штаммов прокариот к новым видам и их описания в качестве новых видов в настоящее время рекомендуется определять значения показателей общего сходства геномов (overall genome related indices), таких как уровень ДНК–ДНК гибридизации *in silico* (dDDH) и величина средней идентичности нуклеотидных последовательностей (average nucleotide identity, ANI) (Chun et al., 2018). Вместе с тем, для идентификации на уровне вида бактерий ряда родов и, в частности, рода *Kribbella*, используются значения генетических расстояний на основе структурных генов или их комбинаций (мультилокусный анализ) (Kirbi et al., 2010; Curtis, Meyers, 2012; Curtis et al., 2020). У криббелл межвидовые значения генетических расстояний были рассчитаны, в частности, для конкатенированной последовательности генов *gyrB–rpoB–recA–relA–atpD* (4099 п.н.) (Curtis, Meyers, 2012; Meyers, 2021).

С развитием молекулярных таксономических методов и выявлением видов, очень близких филогенетически или происходящих из сходных биотопов, исследователи все чаще сталкиваются с проблемой низкой разрешающей способности морфологических и физиолого-биохимических признаков, традиционно используемых для разграничения видов на уровне фенотипа. С другой стороны, было установлено, что состав и структура гликополимеров клеточной стенки могут быть специфичными для видов и таксонов более высокого ранга и использоваться в качестве хемотаксономических маркеров (Naumova et al., 2001; Nouiouei et al., 2018; Потехина и соавт., 2021; Шашков и соавт., 2021).

Целью настоящей работы было таксономическое изучение 7 штаммов актинобактерий рода *Kribbella*, выделенных из почв, и оценка таксономической значимости признака “состав и структура гликополимеров клеточных стенок” для организмов этого рода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Штаммы рода *Kribbella* (ВКМ Ас-2538^T, ВКМ Ас-2540^T, ВКМ Ас-2541^T, ВКМ Ас-2570^T, ВКМ Ас-2572^T, ВКМ Ас-2574^T и ВКМ Ас-2575^T) получены из Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ). Штаммы были выделены из современных и погребенных почв различных регионов России в 2002–2003 гг., предварительно идентифицированы с использованием метода МАЛДИ масс-спектрометрии и анализа фрагментов генов 16S рРНК (Автух, 2012).

Культурально-морфологические характеристики изучали у 5–10-суточных культур, выращенных на ISP-средах (Shirling, Gottlieb, 1966) при 28°C. Используемые методы световой и электронной

(трансмиссионной и сканирующей) микроскопии описаны Сузиной и соавт. (2011). Физиолого-биохимические признаки определяли по описанным методикам (Методы общей бактериологии, 1984). Утилизацию различных источников углерода проверяли на среде ISP 9. Рост при различных температурах и начальных значениях pH определяли на среде ПДА (г/л): пептон — 5; дрожжевой экстракт — 3; глюкоза — 5; КН₂РО₄ — 0.2; агар — 15.0; pH 7.2. Устойчивость к различным концентрациям соли определяли на среде ПДА без добавления агара.

Биомассу для анализов выращивали при 28°C на той же среде ПДА без добавления агара в течение 1 сут. Клетки отделяли центрифугированием и хранили до анализа при –18°C. Хемотаксономические характеристики (состав жирных кислот, фосфолипидов, менахинонов, наличие LL-ДАП и состав сахаров в клеточных стенках) определяли, как описано ранее (Sorokin et al., 2021). Гликополимеры клеточных стенок штаммов ВКМ Ас-2570^T и ВКМ Ас-2574^T исследовали химическими и ЯМР-спектроскопическими методами согласно Шашкову и соавт. (Shashkov et al., 2009).

ДНК выделяли по методу Уилсона (Wilson, 1997). Фрагменты генов 16S рРНК амплифицировали с использованием универсальных бактериальных праймеров 27f и 1492r (Lane, 1991). Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе 3730 DNA Analyzer (“Applied Biosystems”, США). Анализ сходства полученных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК с последовательностями типовых штаммов известных видов проводили на сайте EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net>; Yoon et al., 2017).

Нуклеотидные последовательности генов *gyrB*, *rpoB*, *relA*, *recA* и *atpD* были получены из аннотированных геномов, депонированных в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>): SLWM000000000 (ВКМ Ас-2538^T), SHKR000000000 (ВКМ Ас-2540^T), SLWR000000000 (ВКМ Ас-2541^T), SODF000000000 (ВКМ Ас-2570^T), SLWN000000000 (ВКМ Ас-2572^T), SODU000000000 (ВКМ Ас-2574^T) и SOCE000000000 (ВКМ Ас-2575^T). Конкатенированные последовательности составляли из фрагментов генов *gyrB* (1108 п.н.), *rpoB* (891 п.н.), *relA* (1017 п.н.), *recA* (519 п.н.) и *atpD* (573 п.н.). Эволюционные расстояния для пар конкатенированных последовательностей рассчитывали по двухпараметрической модели Кимуры с исключением делеций и утраченных данных (Kimura, 1980). Филогенетические деревья на основе анализа последовательностей гена 16S рРНК (~1400 п.н.) и конкатенированных генов *gyrB–rpoB–recA–relA–atpD* (4108 п.н.) реконструировали в программе MEGA7 (Kumar et al., 2016), используя методы “neighbour-joining”, “maximum likelihood” и “minimum evolution”. Значения dDDH рассчитывали с

Таблица 1. Сходство (%) нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК, значений dDDH и ANIb и показатели генетических расстояний (*gyrB-rpoB-recA-relA-atpD*; 4108 п.н.) между изученными штаммами и типовыми штаммами филогенетически близких видов рода *Kribbella*

Сравниваемые пары штаммов	16S рРНК	dDDH	ANIb	ГР
ВКМ Ac-2538 ^T – <i>K. qitaiheensis</i> JCM 30343 ^T	99.3	Нд	Нд	0.016
ВКМ Ac-2538 ^T – <i>K. catacumbae</i> DSM 19601 ^T	99.1	27.5	81.9	0.047
ВКМ Ac-2540 ^T –ВКМ Ac-2570 ^T	98.8	32.3	86.1	0.046
ВКМ Ac-2540 ^T – <i>K. jiaoazuonensis</i> NEAU-THZ 27 ^T	99.4	42.0	90.2	0.030
ВКМ Ac-2541 ^T – <i>K. swartbergensis</i> HMC25 ^T	97.9	Нд	Нд	0.045
ВКМ Ac-2541 ^T – <i>K. turkmenica</i> 16K104 ^T	99.3	29.7	83.9	0.042
ВКМ Ac-2541 ^T –ВКМ Ac-2572 ^T	98.6	32.8	86.4	0.048
ВКМ Ac-2570 ^T – <i>K. jiaoazuonensis</i> NEAU-THZ 27 ^T	99.0	33.6	86.6	0.037
ВКМ Ac-2572 ^T – <i>K. turkmenica</i> 16K104 ^T	98.2	Нд	Нд	0.039
ВКМ Ac-2572 ^T – <i>K. swartbergensis</i> HMC25 ^T	99.4	48.7	91.7	0.028
ВКМ Ac-2574 ^T – <i>K. soli</i> FMN22 ^T	99.7	41.8	90.1	0.033
ВКМ Ac-2574 ^T – <i>K. speibonae</i> YM55 ^T	98.8	42.3	89.8	0.030
ВКМ Ac-2574 ^T – <i>K. sindirgiensis</i> FSN23 ^T	99.3	49.8	92.6	0.027
ВКМ Ac-2575 ^T – <i>K. monticola</i> NEAU-SW 521 ^T	99.3	Нд	Нд	0.016

Примечание. ГР – генетическое расстояние; Нд – нет данных.

использованием калькулятора геномных дистанций (формула (2), <http://ggdc.dsmz.de/ggdc.php/>; Meier-Kolthoff et al., 2013). Для расчета ANIb использовали веб-сервер JSpeciesWS (Richter et al., 2015).

Филогеномное дерево на основе однокопийных генов геномов изученных штаммов и имеющихся геномов типовых штаммов рода *Kribbella* строили на сайте BV-BRC (Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center, <https://www.bv-brc.org/>) методом Codon Tree с использованием глобальных семейств белков PATRIC (PGFams) в качестве гомологичных групп (Olson et al., 2023). Для каждого из выбранных однокопийных генов использовалась белковая и нуклеотидная последовательности, которые выравнивали, соответственно, с помощью MUSCLE и функции BioPython. Наборы выравниваний объединяли в матрицу данных и анализировали с помощью RAXML (версия 8.2.11) и Fast Bootstrapping (Olson et al., 2023).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Генотипические характеристики. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов генов 16S рРНК выявил 96.2–99.7% сходства изученных штаммов с типовыми штаммами описанных видов рода *Kribbella* и 98.2–99.3% изученных штаммов между собой. Положение штаммов на древе, построенном на основе фрагментов генов 16S рРНК, представлено на рис. 1а.

Штаммы группировались с известными видами с низкими “bootstrap”-показателями (максимальное значение 62% для пары ВКМ Ac-2540^T–*K. jiaoazuonensis* NEAU-THZ27^T). На древе, построенном на основе последовательностей *gyrB-rpoB-recA-relA-atpD* (4108 п.н.), изученные штаммы группировались с типовыми штаммами известных видов с высокими значениями “bootstrap” (84–100%), за исключением ВКМ Ac-2570^T (рис. 1б). Топология этого древа хорошо согласуется с результатами филогеномного анализа (рис. S1).

Значения dDDH и ANIb между изученными штаммами и ближайшими к ним типовыми штаммами описанных видов криббелл, для которых имеются данные по последовательностям геномов, не превышали 49.8 и 92.6% соответственно (табл. 1), что существенно ниже границ видов прокариот, 70 и 95–96% (Meier-Kolthoff et al., 2013; Ciufu et al., 2018).

Генетические расстояния, вычисленные на основе последовательностей конкатенированных генов (4108 п.н.) между изученными штаммами и типовыми штаммами известных видов (0.016–0.092) и непосредственно между изученными штаммами (0.042–0.076) были в диапазоне значений, определенных между известными видами рода *Kribbella* (0.014–0.095) (табл. S1).

Фенотипические характеристики. На всех агаризованных ISP-средах культуры формировали характерные для криббелл колонии: бесцветные

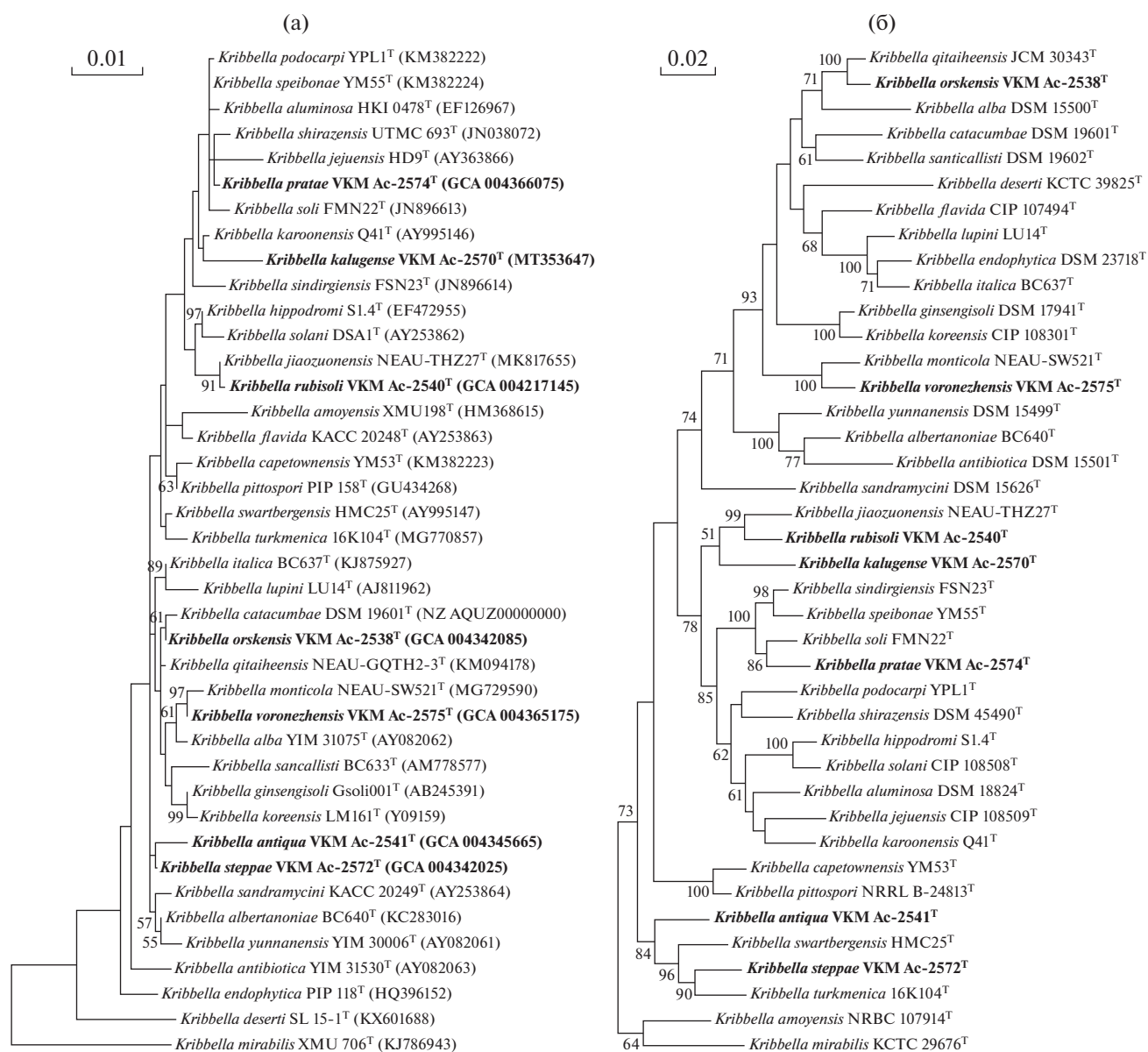


Рис. 1. Филогенетическое положение штаммов рода *Kribbella* на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК (а) и конкатенированных генов *gyrB-rpoB-recA-relA-atpD* (б); группировка по методу “maximum-likelihood”. Указаны значения статистической достоверности порядка ветвления для 1000 альтернативных деревьев (выше 50%). Внешняя группа — *Microcladophora phosphovorus* NM-1^T (AP012204).

или слегка желтоватые, плотные или пастообразные, обычно выросшие в агар, без выраженных отличий между штаммами (видами). На ряде сред на 5–7 сут развивался белый воздушный мицелий. При росте на жидкой и агаризованных средах в молодой культуре образовывались разветвленные гифы, которые фрагментировались с возрастом (рис. 2а, 2б). У ряда штаммов формировались не описанные ранее у крибелл спорангиеподобные структуры, достигающие 4 мкм в диаметре (рис. 2б, 2в), которые делились септами в продольном и поперечном направлениях (рис. 2г). В результате образовывались конгломераты клеток разной величины

и формы, которые при переносе на свежую питательную среду прорастали и давали начало новым гифам. Физиолого-биохимические признаки изученных штаммов характерны для рода *Kribbella* (приведены в табл. 2 и в описаниях новых видов).

У всех изученных штаммов выявлен доминирующий менахинон МК-9(Н₄). В составе жирных кислот преобладали *anteiso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0} и *anteiso*-C_{17:0}. В минорных количествах (менее 2%) у штаммов ВКМ Ac-2538^T и ВКМ Ac-2541^T обнаружены кислоты 2-ОН-*iso*-C_{17:0} и 11Me-C_{18:1}, у ВКМ Ac-2570^T найдена 10Me-C_{17:0}. Полярные липиды

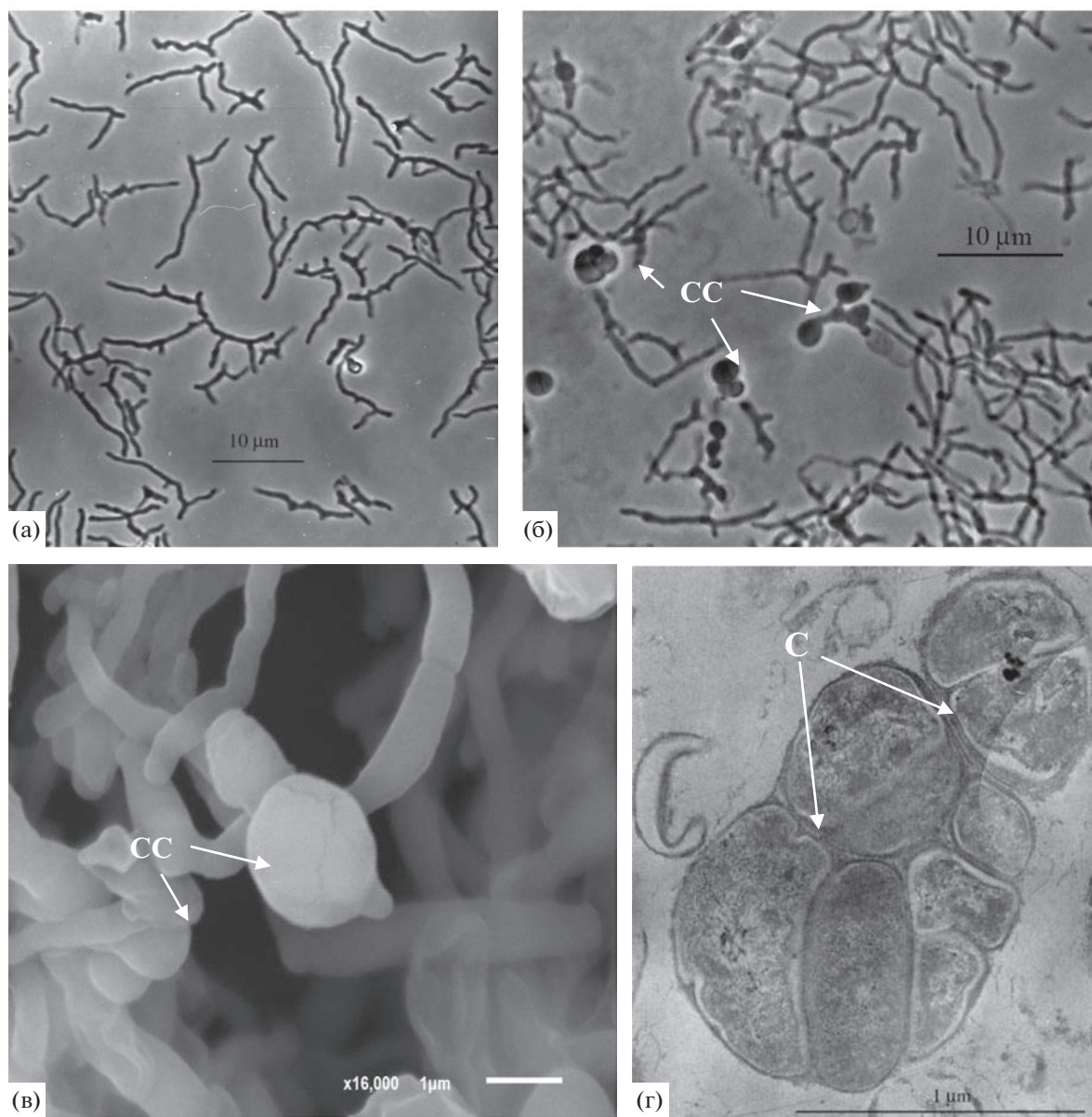


Рис. 2. Морфология штамма ВКМ Ас-2538^T: гифы и спорангиеподобные структуры (а, б) — световая микроскопия, в — сканирующая электронная микроскопия); (г) — полиморфные клетки, образованные в результате деления спорангиеподобных структур множественными септами (электронная микроскопия срезов). Обозначения: СС — спорангиеподобные структуры, С — начало формирования септы.

включали преобладающие фосфолипиды — фосфатидилхолин, фосфатидилинозит, фосфатидилглицерин и дифосфатидилглицерин, а также минорные неидентифицированные липиды, фосфо- и гликолипиды (Автух и соавт., 2011). Клеточные стенки всех исследованных штаммов содержали LL-ДАП и маннозу, а также галактозу и глюкозу или их следы. У штаммов ВКМ Ас-2541^T, ВКМ Ас-2572^T и ВКМ Ас-2575^T обнаружены 3-О-метилгалактоза (мадуроза) и 2,3-ди-О-метилгалактоза. Рибоза, найденная в гидролизатах целых

клеток большинства ранее описанных видов рода *Kribbella*, не была обнаружена.

Отличия на уровне фенотипа были обнаружены между всеми изученными нами штаммами и типовыми штаммами филогенетически близких к ним видов (табл. 2), в том числе между ВКМ Ас-2538^T и *K. qitaiheensis* JCM 30343^T (сходство последовательностей генов *gyrB-rpoB-recA-relA-atpD* — 0.016). В отличие от *K. qitaiheensis*, штамм ВКМ Ас-2538^T формировал, в частности, спорангиеподобные структуры, рос при 4% NaCl и не рос при 37°C, характеризовался наличием оксидазной,

Таблица 2. Некоторые дифференцирующие признаки изученных штаммов и ближайших видов рода *Kribbella*

Характеристики	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Г + Ц, мол. % (геном)	68.0	Нд	68.5	68.6	67.5	67.5	67.5	68.0	67.5	68.0	69.0	Нд	68.0	68.0	68.0	67.5
Размер генома, млн. п.о.	9.2	Нд	8.9	8.9	9.6	8.6	8.3	8.7	8.1	9.1	7.4	Нд	8.4	8.8	8.0	8.0
Число генов, кодирующих белки	8926	Нд	8451	8436	8775	8227	7977	8181	7760	8806	6877	Нд	7955	8271	7379	7350
Сахара целых клеток	Нд	Rib, Glc	Glc, Rib, Man	Нд	Нд	Нд	Нд	Rib, Glc	Нд	Нд	Rib, Glc	Man, Rib	Нд	Rib, Glc, Man	Нд	Rib, Glc, Gal
Жирные кислоты	<i>iC</i> _{16:0} <i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{15:0}	<i>iC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0} <i>C</i> _{17:1}	<i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0}	<i>aC</i> _{15:0}	<i>iC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{17:1} <i>aC</i> _{15:0}	<i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0} <i>aC</i> _{17:0}	<i>iC</i> _{16:0} <i>aC</i> _{15:0} <i>aC</i> _{17:0}	<i>iC</i> _{16:0} <i>iC</i> _{14:0} <i>aC</i> _{15:0}	<i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0} <i>iC</i> _{17:1} <i>aC</i> _{17:0}	Нд	<i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0} <i>iC</i> _{17:0} <i>iC</i> _{15:0}	<i>iC</i> _{16:0} <i>iC</i> _{15:0} <i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{17:0}	<i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0} <i>iC</i> _{15:0}	<i>aC</i> _{15:0} <i>iC</i> _{16:0}	<i>aC</i> _{15:0} <i>aC</i> _{17:0} <i>iC</i> _{16:0}	<i>iC</i> _{16:0} <i>aC</i> _{15:0}
Σ(<i>iC</i> _{14:0} , <i>iC</i> _{16:0} , <i>iC</i> _{18:0})	43.8	22.9	16.7	11.2	Нд	23.6	33.6	58.4	23.2	21.1	24.8	19.9	21.3	14.1	14.4	39.2
Σ(<i>iC</i> _{15:0} , <i>iC</i> _{17:0})	15.8	30.8	8.2	17.1	20.5	10.1	7.2	5.4	14.2	15.9	29.7	20.3	13.2	7.1	13.0	8.0
Σ(<i>aC</i> _{15:0} , <i>aC</i> _{17:0})	26.4	5.2	37.2	49.3	22.4	43.0	35.4	19.0	37.0	40.0	23.4	30.7	49.7	37.0	46.0	29.8
Рост при:																
37°C	–	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	–	+	+
42°C	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	+	+	–	–	–
NaCl _{max} , %	4	2	3	3–5	3	4	4	3	4	4	6	4	5	3	4	2
Образование каталазы	+	–	+	+	+	+	+	Нд	+	+	Нд	+	+	Нд	+	Нд
Образование оксидазы	+	–	–	+	+	+	+	Нд	+	+	Нд	Нд	+	Нд	+	Нд
Деградация:																
крахмал	+	+	+	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
мочевина	+	–	+	+	–	+	+	–	+	+	–	–	+	+	–	–
твин-80	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+	+	+	–	+	–
L-тирозин	–	–	+	+	+	+	–	–	–	–	+	+	+	+	+	–
эскулин	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+
Образование H ₂ S	+	–	Нд	+	–	–	–	–	–	–	–	+	+	Нд	+	–

Примечание. 1 – ВКМ Ac-2538^T; 2 – *K. qitathensis* JCM 30343^T; 3 – *K. sindirgensis* FSN23^T; 4 – *K. speilbae* YM55^T; 5 – *K. catasimbae* DSM 19601^T; 6 – ВКМ Ac-2540^T; 7 – ВКМ Ac-2570^T; 8 – *K. jiaozuonensis* NEAU-THZ 27^T; 9 – ВКМ Ac-2541^T; 10 – ВКМ Ac-2572^T; 11 – *K. turkmenica* 16K104^T; 12 – *K. swarbergensis* HMC25^T; 13 – ВКМ Ac-2574^T; 14 – *K. soli* FMN22^T; 15 – ВКМ Ac-2575^T; 16 – *K. monticola* NEAU-SW 521^T; “+” – присутствует или положительный результат теста; “–” – отсутствует или отрицательный результат теста; “±” – следовые количества; Нд – нет данных; Glc – галактоза; Gal – глюкоза; Man – манноза; Rib – рибоза. Данные для известных видов рода *Kribbella* взяты из публикаций с описанием соответствующих видов (Kirby et al., 2006; Guo et al., 2015; Ozdemir-Kocak et al., 2017; Song et al., 2018; Saygin et al., 2019; Zhao et al., 2019; Curtis et al., 2020) и базы данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Таблица 3. Гликополимеры и сахара клеточных стенок изученных штаммов рода *Kribbella*

Штаммы	ВКМ Ac-2538 ^T	ВКМ Ac-2540 ^T	ВКМ Ac-2541 ^T	ВКМ Ac-2570 ^T	ВКМ Ac-2572 ^T	ВКМ Ac-2574 ^T	ВКМ Ac-2575 ^T
Гликополимеры:							
маннан	+	+	+	+	+	+	+
ТУК1	+	+	—	+	—	+	—
ТУК2	—	—	—	—	+	—	—
ТУЛК1	—	—	+	—	—	—	—
ТУЛК2	—	—	—	—	+	—	+
Сахара:							
манноза	+	+	+	+	+	+	+
галактоза	±	±	±	±	+	±	+
глюкоза	±	±	±	+	—	±	±
3-О-метилгалактоза	—	—	+	—	+	—	+
2,3-ди-О-метилгалактоза	—	—	+	—	+	—	+
β-псевдаминная кислота	—	—	+	—	+	—	+

Примечание. ТУК — тейхуроновая кислота; ТУЛК — тейхулозоновая кислота; “+” — присутствует; “—” — отсутствует; “±” — следовые количества (структуры гликополимеров представлены на рис. 3).

каталазной и уреазной активностями, не разлагал эскулин и был способен образовывать сероводород. Кроме того, штаммы выделены из биотопов с разными физико-химическими условиями: штамм ВКМ Ac-2538 — из чернозема (Оренбургская обл., РФ), а штамм *K. qitaiheensis* JCM 30343^T — из илистой почвы ручья (северо-восток Китая).

Состав и структура гликополимеров клеточных стенок и их таксономическая значимость. Гликополимеры, выявленные у криббелл в настоящей работе (у штаммов ВКМ Ac-2570^T и ВКМ Ac-2574^T) и описанные ранее (у ВКМ Ac-2538^T, ВКМ Ac-2540^T, ВКМ Ac-2541^T, ВКМ Ac-2572^T, ВКМ Ac-2575^T) (Shashkov et al., 2009; Tul'skaya et al., 2011), представляли собой маннан, тейхуроновые и тейхулозоновые кислоты, которые присутствовали в клеточных стенках исследованных штаммов в разных комбинациях (табл. 3).

¹³C ЯМР-спектры гликополимеров штаммов ВКМ Ac-2570^T и ВКМ Ac-2574^T были идентичны и сходны с полученными ранее спектрами для штаммов ВКМ Ac-2538^T и ВКМ Ac-2540^T, что свидетельствовало и об идентичности и самих полимеров. Нейтральный полимер, идентифицированный у всех штаммов криббелл, изученных в настоящей работе и ранее (Shashkov et al., 2009; Tul'skaya et al., 2011), представлял собой (1 → 6)-связанный α-маннан, несущий по О-2 боковые остатки α-маннозы (рис. 3а).

Штаммы ВКМ Ac-2570^T и ВКМ Ac-2574^T (а также ВКМ Ac-2538^T и ВКМ Ac-2540^T) содержали второй полимер — тейхуроновую кислоту (ТУК1; рис. 3б), построенную из чередующихся остатков

N-ацетилированных производных диаминоманнуриновой кислоты и диаминоглюкозы — моносахарида, редко встречающегося в гликополимерах грамположительных бактерий (Shashkov et al., 2009). Тейхуроновая кислота штамма ВКМ Ac-2572^T (ТУК2; рис. 3б) включала остатки N-ацетилированных производных аминаманнуриновой кислоты и другого редко встречающегося в гликополимерах моносахарида — ацетилированной по О-4 диаминоглюкозы, а также тейхулозоновую кислоту (ТУЛК2; рис. 3в) (Tul'skaya et al., 2011).

Основная цепь тейхулозоновых кислот штаммов ВКМ Ac-2541^T, ВКМ Ac-2572^T и ВКМ Ac-2575^T содержала остатки β-псевдаминной кислоты (Tul'skaya et al., 2011). При этом в полимере штамма ВКМ Ac-2541^T (имеющем регулярную структуру) β-псевдаминная кислота присутствовала в виде 4-гидроксипутирата (ТУЛК1; рис. 3в) и несла боковые остатки 3-О-метилгалактозы (мадурызы, α-Galp3OMe) и/или 2,3-ди-О-метилгалактозы (α-Galp2,3OMe) (Shashkov et al., 2009). Тейхулозоновая кислота штаммов ВКМ Ac-2572^T и ВКМ Ac-2575^T (ТУЛК2; рис. 3в) имела нерегулярную структуру и включала два типа фрагментов — А и Б. Фрагменты А (преобладающие) состояли из остатков галактозил-4-гидроксипутирата β-псевдаминной кислоты, несущей боковые заместители α-Galp3OMe или α-Galp2,3OMe. Фрагменты Б (минорные) идентичны по структуре ТУЛК1, обнаруженной у штамма ВКМ Ac-2541^T.

На основе вышеизложенных данных можно заключить, что разветвленный α-маннан, присутствующий у всех изученных представителей рода и не описанный у других прокариотных мик-

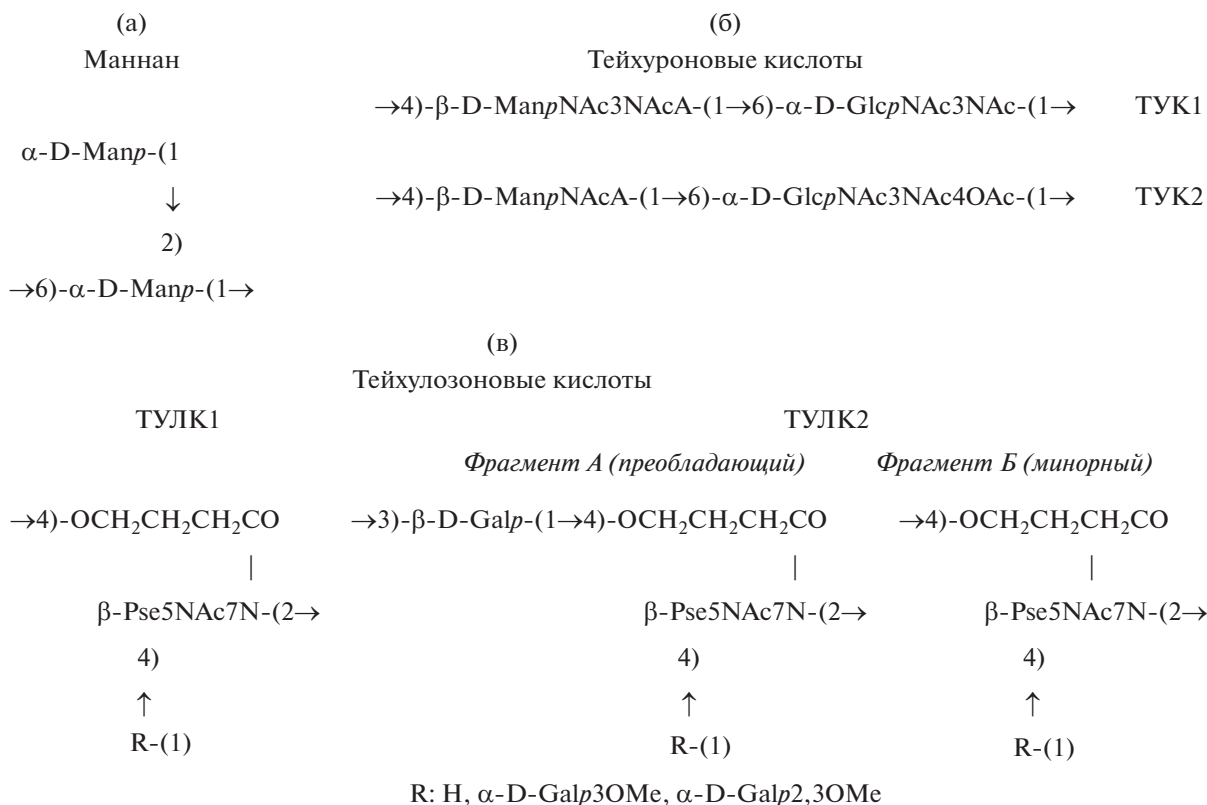


Рис. 3. Структуры гликополимеров клеточных стенок изученных штаммов. Обозначения: ТУК1 – тейхуроновая кислота клеточной стенки штаммов ВКМ Ас-2538^T, ВКМ Ас-2540^T, ВКМ Ас-2570^T и ВКМ Ас-2574^T; ТУК2 – тейхуроно-вая кислота клеточной стенки штамма ВКМ Ас-2572; ТУЛК1 – тейхулозоновая кислота с регулярной структурой штамма ВКМ Ас-2541^T; ТУЛК2 – тейхулозоновая кислота с нерегулярной структурой штаммов ВКМ Ас-2572^T и ВКМ Ас-2575^T; Pse – псевдааминовая кислота; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ – остаток 4-гидроксипутирата; $\alpha\text{-D-Galp3OMe}$ – 3-О-метилгалактоза, $\alpha\text{-D-Galp2,3OMe}$ – 2,3-ди-О-метилгалактоза.

роорганизмов, может служить в качестве хемотаксономического маркера рода *Kribbella*, а комбинации разных по структуре тейхуроновых и тейхулозоновых кислот (также известных к настоящему времени только у криббелл), специфичны для отдельных видов или групп видов рода. Кроме того, диагностическими хемотаксономическими признаками отдельных видов или групп видов рода *Kribbella* могут являться и выявляемые хроматографическими методами при анализе состава сахаров клеточных стенок компоненты гликополимеров, в частности, 3-О-метилгалактоза (мадуро́за), 2,3-ди-О-метилгалактоза, а также галактоза и глюкоза (манноза присутствует у всех изученных штаммов). Интересно отметить, что сходный состав гликополимеров и их структурных компонентов могут иметь как близкородственные, так и филогенетически удаленные виды криббелл.

Таким образом, показатели сходства геномов (таксогеномные показатели) dDDH и ANIb, а также значения эволюционных расстояний на основе конкатенированных генов *gyrB*–*rpoB*–*recA*–

relA–*atpD*, согласующиеся с обособленным положением изученных штаммов на филогенетических и филогеномном деревьях, с одной стороны, и отличия штаммов друг от друга и от типовых штаммов ближайших видов на фенотипическом уровне, с другой стороны, позволяют описать семь изученных штаммов в качестве семи новых видов рода *Kribbella*.

С учетом полученной новой информации и ранее опубликованных данных (Lee et al., 2000; Kirby et al., 2006; Shashkov et al., 2009; Evtushenko, Krauzova, 2010; Tul'skaya et al., 2011; Everest et al., 2013; Nouiou et al., 2018; Meyers, 2021) предлагается также дополненное и исправленное описание рода.

Дополненное и исправленное описание рода
Kribbella Park et al. 1999 emend. Sohn et al.
 2003 emend. Everest et al. 2013

Описание рода как опубликовано Park et al. (1999) и исправлено и дополнено позже Sohn et al.

(2003), Everest et al. (2013), со следующими изменениями.

Представители рода могут образовывать спорангиеподобные структуры до 4 мкм в диаметре, делящиеся септами в продольном и поперечном направлениях с образованием конгломератов полиморфных клеток. Аэробы, возможен слабый анаэробный рост. Остатки муравовой кислоты пептидогликана N-ацетилованы. Гликополимеры клеточных стенок включают α -маннан, а также комбинации различных по структуре теихуроновых и/или теихулозоновых кислот. В составе сахаров клеточных стенок присутствует манноза, у ряда видов обнаруживается 3-O-метилгалактоза (мадуроza) и 2,3-ди-O-метилгалактоза. Преобладают насыщенные *iso*- и *anteiso*-разветвленные жирные кислоты. Диагностический полярный липид — фосфотидилхолин, дополнительно обнаруживаются фосфатидилинозит, фосфатидилглицерин и дифосфатидилглицерин, а также различные минорные компоненты. Содержание Г + Ц пар в ДНК в пределах 65.3–71.6% (определено по температуре плавления, $T_{пл}$) и 67.0–70.6 мол. % (вычислено на основе доступных последовательностей геномов представителей рода). Род принадлежит к семейству *Kribbellaceae* Nouioui et al. 2018.

Описание *Kribbella orskensis* sp. nov.

Kribbella orskensis (orsk.en'sis. N.L. neut. adj. *orskensis*, относящийся к Орску, городу в Оренбургской области, месту отбора почвы — источника выделения типового штамма).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые, бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Воздушный мицелий белого цвета. Растворимые пигменты отсутствуют. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. На гифах образуются спорангиеподобные структуры до 4 мкм в диаметре, делящиеся септами в продольном и поперечном направлении; в результате образуются плотные конгломераты полиморфных клеток, которые прорастают при переносе на свежие питательные среды. Оптимум роста 28°C, рост отсутствует при 6 и 37°C. Растет на ПДА в присутствии 1–4% NaCl и при исходных значениях pH 5–11 (оптимум — pH 7).

Аэроб. Каталазо-, оксидазо- и уреазоположительно. Использует в качестве источника углерода и энергии L-арабинозу, D-глюкозу, D-ксилозу, D-лактозу, D-мальтозу, D-маннозу, L-рамнозу, D-фруктозу, раффинозу, сахарозу, глицерин, инозит и маннит на среде ISP 9; не использует дульцит, сорбит и целлюлозу. Гидролизует желатин, крахмал и твин-80. Не разлагает гипоксан-

тин, казеин, ксантин, L-тирозин и эскулин. Образует H_2S .

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, следы галактозы и глюкозы. Гликополимеры клеточной стенки — разветвленный α -маннан и теихуроновая кислота, основная цепь которой состоит из чередующихся остатков N-ацетил-диаминоманнуриновой кислоты и N-ацетил-диаминоглюкозы.

Доминирующий менахинон — МК-9(H_4). Полярные липиды — фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и ряд неидентифицированных компонентов. В составе жирных кислот преобладают *iso*-C_{16:0}, *anteiso*-C_{15:0} и *iso*-C_{15:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 68%, размер генома ≈ 9.2 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2538^T выделен из чернозема (Оренбургская обл., РФ).

Последовательность гена 16S рРНК штамма ВКМ Ас-2538^T депонирована в GenBank под номером MT525347. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2538^T депонирована в GenBank под номером SLWM00000000.

Описание *Kribbella rubisoli* sp. nov.

Kribbella rubisoli (ru.bi.so'li. L. n. *rubus* малина; L. n. *solum* почва; N.L. *rubisoli*, относящийся к источнику выделения штамма).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые, бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Растворимые пигменты отсутствуют. Воздушный мицелий белого цвета. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы слабо или интенсивно фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. Растет на ПДА при 37°C, не растет при 6 и 42°C (оптимум — 28°C). Растет на ПДА в присутствии 1–4% NaCl и при исходных значениях pH 5–11 (оптимум — pH 7).

Аэроб. Каталазо-, оксидазо- и уреазоположительно. Способен использовать в качестве источника углерода и энергии D-глюкозу, D-ксилозу, D-лактозу, D-мальтозу, D-маннозу, L-рамнозу, D-фруктозу, раффинозу, сахарозу, инозит и маннит на среде ISP 9; не использует L-арабинозу, глицерин, дульцит, сорбит и целлюлозу. Гидролизует гипоксантин, желатин, казеин, крахмал, ксантин, твин-80, L-тирозин и эскулин. Не образует H_2S .

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, следы галактозы и глюкозы. Гликополимеры клеточной стенки — разветвленный α -маннан и теихуроновая кислота, основная цепь которой состоит из чередующихся остатков N-ацетил-диами-

номаннуриновой кислоты и N-ацетил-диаминоглюкозы.

Доминирующий менахинон — МК-9(H₄). Полярные липиды — фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и несколько неидентифицированных компонентов. В составе жирных кислот преобладают *anteiso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0} и *anteiso*-C_{17:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 67.5 %, размер генома ≈ 8.6 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2540^T выделен из почвы посадок малины (Мордовия, РФ).

Последовательность гена 16S рНК штамма ВКМ Ас-2540^T депонирована в GenBank под номером MT525349. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2540^T депонирована в GenBank под номером SHKR00000000.

Описание *Kribbella antiqua* sp. nov.

Kribbella antiqua (an'ti.qu.a. L. neut. adj. *antiqua*, древний, указывающий на древний возраст почвы, из которой выделен типовой штамм).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Растворимые пигменты отсутствуют. Воздушный мицелий белого цвета. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы слабо или интенсивно фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. Растет на ПДА при 42°C, не растет при 6 и 50°C (оптимум — 28°C). Растет на ПДА в присутствии 1–4% NaCl и при исходных значениях pH 5–11 (оптимум — pH 7).

Аэроб. Каталазо-, оксидазо- и уреазоположителен. Способен использовать в качестве источника углерода и энергии L-арабинозу, D-глюкозу, D-ксилозу, D-лактозу, D-мальтозу, D-маннозу, L-рамнозу, D-фруктозу, раффинозу, сахарозу, глицерин, инозит, маннит и сорбит на среде ISP; не использует дульцит и целлюлозу. Гидролизует гипоксантин, желатин, казеин, крахмал, ксантин и эскулин. Не разлагает твин-80 и L-тирозин. Не образует H₂S.

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, 3-О-метилгалактозу, 2,3-ди-О-метилгалактозу, следы галактозы и глюкозы. Гликополимеры клеточной стенки — разветвленный α-маннан и тейхулозонавая кислота, основная цепь которой содержит остатки 4-гидроксипутирата β-псевдманнозой кислоты с боковыми заместителями — 3-О-метилгалактозой или 2,3-ди-О-метилгалактозой.

Доминирующий менахинон — МК-9(H₄). Полярные липиды — фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и несколько неидентифицированных

компонентов. В составе жирных кислот преобладают *anteiso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0}, *iso*-C_{17:1} и *anteiso*-C_{17:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 67.5 %, размер генома ≈ 8.1 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2541^T выделен из образца погребенной почвы, отобранного при археологических раскопках (Волгоградская обл., РФ).

Последовательность гена 16S рНК штамма ВКМ Ас-2541^T депонирована в GenBank под номером MT525350. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2541^T депонирована в GenBank под номером SLWR00000000.

Описание *Kribbella kalugense* sp. nov.

Kribbella kalugense (ka.lug.en'se. N.L. neut. adj. *kalugense*, относящийся к Калуге, областному центру территории, на которой отобран образец почвы — источник выделения типового штамма).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые, бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Воздушный мицелий белого цвета. Растворимые пигменты отсутствуют. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы слабо или интенсивно фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. Оптимум роста 28°C, не растет при 6 и 37°C. Растет на ПДА в присутствии 1–4% NaCl и при исходных значениях pH 5–11 (оптимум — pH 7).

Аэроб. Каталазо-, оксидазо- и уреазоположителен. Способен использовать в качестве источника углерода и энергии L-арабинозу, D-глюкозу, D-мальтозу, D-фруктозу, раффинозу, инозит и целлюлозу на среде ISP 9; не использует D-ксилозу, D-лактозу, D-маннозу, L-рамнозу, сахарозу, глицерин, дульцит, маннит и сорбит. Гидролизует желатин, казеин, крахмал и эскулин. Не разлагает гипоксантин, твин-80 и L-тирозин. Не образует H₂S.

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, глюкозу и следы галактозы. Гликополимеры клеточной стенки — разветвленный α-маннан и тейхуриновая кислота, основная цепь которой включает чередующиеся остатки N-ацетил-диаминоманнуриновой кислоты и N-ацетил-диаминоглюкозы.

Доминирующий менахинон — МК-9(H₄). Полярные липиды — фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и несколько неидентифицированных компонентов. В составе жирных кислот преобладают *iso*-C_{16:0}, *anteiso*-C_{15:0} и *anteiso*-C_{17:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 67.5%, размер генома ≈ 8.3 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2570^T выделен из почвы луга (Калужская обл., РФ).

Последовательность гена 16S рРНК штамм ВКМ Ас-2570^T депонирована в GenBank под номером MT353647. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2570^T депонирована в GenBank под номером SODF00000000.

Описание *Kribbella steppae* sp. nov.

Kribbella steppae (stepp.a'e. L. n. *steppe* степь; N.L. *steppae*, относящийся к степи, месту обнаружения типового штамма).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые, бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Воздушный мицелий белого цвета. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы слабо или интенсивно фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. Растворимые пигменты отсутствуют. Растет на ПДА при 37°C, не растет при 6 и 42°C (оптимум – 28°C). Растет на ПДА в присутствии 1–4% NaCl и при исходных значениях pH 5–10 (оптимум – pH 7).

Аэроб. Каталазо-, оксидазо- и уреазоположителен. Способен использовать в качестве источника углерода и энергии L-арабинозу, D-глюкозу, D-ксилозу, D-лактозу, D-мальтозу, D-маннозу, L-рамнозу, D-фруктозу, раффинозу, сахарозу, глицерин, дульцит, инозит, маннит и сорбит на среде ISP 9; не использует целлюлозу. Гидролизует гипоксантин, желатин, казеин, крахмал, ксантин, твин-80 и эскулин. Не разлагает L-тирозин. Не образует H₂S.

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, 3-О-метилгалактозу, 2,3-ди-О-метилгалактозу и галактозу. Гликополимеры клеточной стенки включают разветвленный α-маннан, тейхуроновую кислоту, основная цепь которой состоит из чередующихся остатков N-ацетил-аминоманнуровой кислоты и N-ацетил-диаминоглюкозы (ацетилированной по О-4), и тейхулозоновую кислоту – гетерополимер, в котором остатки галактозил-4-гидроксibuтирата β-псевдаминовой кислоты регулярно чередуются с остатками 4-гидроксibuтирата β-псевдаминовой кислоты. В обоих случаях остатки β-псевдаминовой кислоты имеют боковые заместители – 3-О-метилгалактозу или 2,3-ди-О-метилгалактозу.

Доминирующий менахинон – МК-9(H₄). Полярные липиды – фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и несколько неидентифицированных компонентов. В составе жирных кислот преобладают *anteiso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0}, *iso*-C_{17:0} и *iso*-C_{15:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 68%, размер генома ≈9.1 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2572^T выделен из чернозема (Белгородская обл., РФ).

Последовательность гена 16S рРНК штамма ВКМ Ас-2572^T депонирована в GenBank под номером MT525355. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2572^T депонирована в GenBank под номером SLWN00000000.

Описание *Kribbella pratensis* sp. nov.

Kribbella pratensis (prat.en'sis. L. *pratium* луг; N.L. neut. adj. *pratensis* относящийся к лугу, месту обнаружения типового штамма).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые, бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Воздушный мицелий белого цвета. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы слабо или интенсивно фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. Растворимые пигменты отсутствуют. Растет на ПДА при 42°C, не растет при 6°C (оптимум – 28°C). Растет на ПДА в присутствии 1–5% NaCl и при исходных значениях pH 5–11 (оптимум – pH 7).

Аэроб. Каталазо-, оксидазо- и уреазоположителен. Способен использовать в качестве источника углерода и энергии L-арабинозу, D-глюкозу, D-ксилозу, D-лактозу, D-мальтозу, D-маннозу, L-рамнозу, D-фруктозу, раффинозу, сахарозу, глицерин, инозит и маннит на среде ISP 9; не использует дульцит, целлюлозу и сорбит. Гидролизует желатин, казеин, крахмал, ксантин, твин-80, L-тирозин и эскулин. Не разлагает гипоксантин. Образует H₂S.

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, следы галактозы и глюкозы. Гликополимеры клеточной стенки – разветвленный α-маннан, тейхуроновая кислота, основная цепь которой состоит из чередующихся остатков N-ацетил-диаминоманнуровой кислоты и N-ацетил-диаминоглюкозы.

Доминирующий менахинон – МК-9(H₄). Полярные липиды – фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и несколько неидентифицированных компонентов. В составе жирных кислот преобладают *anteiso*-C_{15:0}, *iso*-C_{16:0} и *anteiso*-C_{17:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 68%, размер генома ≈8.4 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2574^T выделен из почвы луга (п. Третьяки Воронежской обл., РФ).

Последовательность гена 16S рРНК штамма ВКМ Ас-2574^T депонирована в GenBank под номером MT525357. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2574^T депонирована в GenBank под номером SODU00000000.

Описание *Kribbella voronezhensis* sp. nov.

Kribbella voronezhensis (vo.ro.nezh.e'n.sis. N.L. neut. adj. *voronezhensis* относящийся к названию города Воронежу, месту отбора почвы, из которой выделен типовой штамм).

Пастообразные, складчатые или гладкие, матовые, бесцветные или желтоватые колонии формируются на поверхности и проникают в агар на всех ISP-средах. Воздушный мицелий белого цвета. Тонкие разветвленные вегетативные и воздушные гифы слабо или интенсивно фрагментируются с возрастом на палочковидные и кокковидные элементы. Растворимые пигменты отсутствуют. Растет на ПДА при 37°C, не растет при 6 и 42°C (оптимум – 28°C). Растет на ПДА в присутствии 1–4% NaCl и при исходных значениях pH 5–11 (оптимум – pH 7).

Аэроб. Каталазо- и оксидазоположителен. Способен использовать в качестве источника углерода и энергии L-арабинозу, D-глюкозу, D-ксилозу, D-лактозу, D-мальтозу, D-маннозу, L-рамнозу, D-фруктозу, раффинозу, сахарозу, глицерин, инозит, маннит и сорбит на среде ISP 9; не использует дульцит и целлюлозу. Гидролизует желатин, казеин, крахмал, ксантин, твин-80 и L-тирозин. Не разлагает гипоксантин и эскулин. Образует H₂S.

Клеточная стенка содержит LL-ДАП, маннозу, галактозу, 3-О-метилгалактозу, 2,3-ди-О-метилгалактозу и следы глюкозы. Гликополимеры клеточной стенки – разветвленный α-маннан и тейхулозоновая кислота – гетерополимер, в котором остатки галактозил-4-гидроксипутирата β-псевдаминовой кислоты нерегулярно чередуются с остатками 4-гидроксипутирата β-псевдаминовой кислоты. Остатки β-псевдаминовой кислоты в обоих случаях имеют боковые заместители – 3-О-метилгалактозу или 2,3-ди-О-метилгалактозу.

Доминирующий менахинон – МК-9(H₄). Полярные липиды – фосфатидилхолин, дифосфатидилглицерин, фосфатидилглицерин, фосфатидилинозит и несколько неидентифицированных компонентов. В составе жирных кислот преобладают *anteiso*-C_{15:0}, *anteiso*-C_{17:0} и *iso*-C_{16:0}. Содержание Г + Ц пар в геноме типового штамма 68%, размер генома ≈ 8.0 млн п.н.

Типовой штамм ВКМ Ас-2575^T выделен из почвы луга (п. Третьяки Воронежской обл., РФ).

Последовательность гена 16S рРНК штамма ВКМ Ас-2575^T депонирована в GenBank под номером MT525358. Последовательность генома штамма ВКМ Ас-2575^T депонирована в GenBank под номером SOCE00000000.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-15-2021-1051).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Автух А.Н. Систематика актиномицетов рода *Kribbella*. Автореферат дис. ... канд. биол. наук, 29.06.2012. Пушкино: Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, 2012. 24 с.
- Автух А.Н., Винокурова Н.Г., Арискина Е.В., Дорофеева Л.В., Барышникова Л.М. Состав полярных липидов как хемотаксономический маркер видов рода *Kribbella* // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2011. № 4/1. С. 71.
- Методы общей бактериологии. Пер. с англ. / Под ред. Герхардта Ф. и др. М.: Мир, 1984. 264 с.
- Manual of Methods for General Bacteriology // Edited by Gerhardt P. American Society for Microbiology, 1981. 524 p.
- Потехина Н.В., Шапков А.С., Тульская Е.М., Арискина Е.В., Дорофеева Л.В., Евтушенко Л.И. Галактофуранан клеточной стенки актинобактерий рода *Paenarthrobacter* // Микробиология. 2021. Т. 90. С. 122–128.
- Potekhina N.V., Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Ariskina E.V., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I. Cell wall galactofuranan of the *Paenarthrobacter actinobacteria* // Microbiology (Moscow). 2021. V. 90. P. 106–111.
- Сузина Н.Е., Дуда В.И., Есикова Т.З., Шорохова А.П., Гафаров А.Б., Олейников Р.Р., Акимов В.Н., Абашина Т.Н., Полищева В.Н., Боронин А.М. Новые ультрамикробактерии из рода *Chryseobacterium*, штаммы NF4 и NF5 факультативные эписимбионты *Bacillus subtilis* // Микробиология. 2011. Т. 80. С. 529–542.
- Suzina N.E., Duda V.I., Esikova T.Z., Shorokhova A.P., Gafarov A.B., Oleinikov R.R., Abashina T.N., Boronin A.M., Akimov V.N., Polivtseva V.N. Novel ultramicrobacteria, strains NF4 and NF5, of the genus *Chryseobacterium*: facultative epibionts of *Bacillus subtilis* // Microbiology (Moscow). 2011. V. 80. P. 535–548.
- Шапков А.С., Тульская Е.М., Потехина Н.В., Дмитриенко А.С., Сенченкова С.Н., Зайчиков В.А., Дорофеева Л.В., Евтушенко Л.И. D-рамнан и пируватсодержащая тейхуоновая кислота клеточной стенки *Rathayibacter* sp. ВКМ Ас-2759 // Биохимия. 2021. Т. 86. С. 595–606.
- Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Potekhina N.V., Dmitrenok A.S., Senchenkova S.N., Zaychikov V.A., Dorofeeva L.V., Evtushenko L.I. D-Rhamnan and pyruvate-containing teichuronic acid from the cell wall of *Rathayibacter* sp. VKM Ac-2759 // Biochemistry (Moscow). 2021. V. 86. P. 506–516.

- Chun J., Oren A., Ventosa A., Christensen H., Arahal D.R., da Costa M.S., Rooney A.P., Yi H., Xu X.-W., De Meyer S., Trujillo M.E. Proposed minimal standards for the use of genome data for the taxonomy of prokaryotes // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018. V. 68. P. 461–466.
- Ciufo S., Kannan S., Sharma S., Badretdin A., Clark K., Turner S., Brover S., Schoch C.L., Kimchi A., DiCuccio M. Using average nucleotide identity to improve taxonomic assignments in prokaryotic genomes at the NCBI // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018. V. 68. P. 2386–2392.
- Curtis S.M., Meyers P.R. Multilocus sequence analysis of the actinobacterial genus *Kribbella* // *Syst. Appl. Microbiol.* 2012. V. 35. P. 441–446.
- Curtis S.M., Norton I., Everest G.J., Pelser J.G., de Kock M.C., Meyers P.R. Development of a *Kribbella*-specific isolation medium and description of *Kribbella capetownensis* sp. nov. and *Kribbella speibonae* sp. nov., isolated from soil // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2020. V. 113. P. 617–628.
- Evtushenko L.I., Krausova V.I. Genus *Kribbella* Park et al. 1999 emend. Sohn et al. 2003 // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. V. 5. The Actinobacteria. New York: Springer, 2012. P. 1264–1280.
- Everest G.J., Curtis S.M., De Leo F., Urzì C., Meyers P.R. *Kribbella albertanoniae* sp. nov., isolated from a Roman catcomb, and emended description of the genus *Kribbella* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013. V. 63. P. 3591–3596.
- Guo L., Zhao J., Liu C., Han C., Bai L., Sun P., Li J., Wang X., Xiang W. *Kribbella qitaiheensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2015. V. 6. P. 1533–1539.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // *J. Mol. Evol.* 1980. V. 16. P. 111–120.
- Kirby B.M., Le Roes M., Meyers P.R. *Kribbella karoensis* sp. nov. and *Kribbella swartbergensis* sp. nov., isolated from soil from the Western Cape, South Africa // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006. V. 56. P. 1097–1101.
- Kirby B.M., Everest G.J., Meyers P.R. Phylogenetic analysis of the genus *Kribbella* based on the *gyrB* gene: proposal of a *gyrB*-sequence threshold for species delineation in the genus *Kribbella* // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2010. V. 97. P. 131–142.
- Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets // *Mol. Biol. Evol.* 2016. V. 33. P. 1870–1874.
- Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing // *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics* / Eds. Stackebrandt E., Goodfellow M. Chichester: Wiley, 1991. P. 115–175.
- Lee S.D., Kang S.O., Hah Y.C. *Hongia* gen. nov., a new genus of the order Actinomycetales // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000. V. 50. P. 191–199.
- Meier-Kolthoff J.P., Auch A.F., Klenk H.-P., Göker M. Genome sequence-based species delimitation with confidence intervals and improved distance functions // *BMC Bioinform.* 2013. V. 14. P. 60.
- Meyers P. Genus *Kribbella* // *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* / Ed. Carro L. Wiley: 2021. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00157.pub2>
- Naumova I.B., Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Streshinskaya G.M., Kozlova Y.I., Potekhina N.V., Evtushenko L.I., Stackebrandt E. Cell wall teichoic acids: structural diversity, species specificity in the genus *Nocardioopsis*, and chemotaxonomic perspective // *FEMS Microbiol. Rev.* 2001. V. 25. P. 269–283.
- Nouioui I., Carro L., Garcia-Lopez M., Meier-Kolthoff J.P., Woyke T., Kyrpides N.C., Pukall R., Klenk H.P., Goodfellow M., Göker M. Genome-based taxonomic classification of the phylum Actinobacteria // *Front. Microbiol.* 2018. V. 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02007>
- Olson R.D., Assaf R., Brettin T., Conrad N., Cucinell C., Davis J.J., Dempsey D.M., Dickerman A., Dietrich E.M., Kenyon R.W., Kuscuglu M., Lefkowitz E.J., Lu J., Machi D., Macken C., Mao C., Niewiadomska A., Nguyen M., Olsen G.J., Overbeek J.C., Parrello B., Parrello V., Porter J.S., Pusch G.D., Shukla M., Singh I., Stewart L., Tan G., Thomas C., VanOeffelen M., Vonstein V., Wallace Z.S., Warren A.S., Wattam A.R., Xia F., Yoo H., Zhang Y., Zmasek C.M., Scheuermann R.H., Stevens R.L. Introducing the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center (BV-BRC): a resource combining PATRIC, IRD and ViPR // *Nucleic Acids Res.* 2023. V. 51. I. D. P. D678–D689.
- Ozdemir-Kocak F., Saygin H., Saricaoglu S., Cetin D., Guven K., Spröer C., Schumann P., Klenk H.P., Sahin N., Isik K. *Kribbella soli* sp. nov., isolated from soil // *Antonie van Leeuwenhoek*. 2017. V. 110. P. 641–649.
- Park Y.-H., Yoon J.-H., Shin Y.K., Suzuki K.-I., Kudo T., Seino A., Kim H.-J., Lee J.-S., Lee S.T. Classification of “*Nocardioideus fulvus*” IFO (now NBRC) 14399 and *Nocardioideus* sp. ATCC 39419 in *Kribbella* gen. nov., as *Kribbella flavida* sp. nov. and *Kribbella sandramycini* sp. nov. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1999. V. 49. P. 743–752.
- Richter M., Rosselló-Móra R., Glöckner F.O., Peplies J. JSpeciesWS: a web server for prokaryotic species circumscription based on pairwise genome comparison // *Bioinformatics*. 2015. V. 32. P. 929–931.
- Saygin H., Ay H., Guven K., Sahin N. *Kribbella turkmenica* sp. nov., isolated from the Karakum Desert // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2019. V. 69. P. 2533–2540.
- Shashkov A.S., Tul'skaya E.M., Streshinskaya G.M., Senchenkova S.N., Avtikh A.N., Evtushenko L.I. New cell wall glycopolymers of the representatives of the genus *Kribbella* // *Carb. Res.* 2009. V. 344. P. 2255–2262.
- Shirling E.B., Gottlieb D. Methods for characterization of *Streptomyces* species // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1966. V. 16. P. 313.
- Sohn K., Hong S.G., Bae K.S., Chun J. Transfer of *Hongia koreensis* Lee et al. 2000 to the genus *Kribbella* Park et al. 1999 as *Kribbella koreensis* comb. nov. // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003. V. 53. P. 1005–1007.
- Song W., Duan L., Zhao J., Jiang S., Guo X., Xiang W., Wang X. *Kribbella monticola* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2018. V. 68. P. 3441–3446.
- Sorokin D.Y., Khijniak T.V., Zakharycheva A.P., Elcheninov A.G., Hahnke R.L., Boueva O.V., Ariskina E.V., Bunk B., Kublanov I.V., Evtushenko L.I. *Natronoglycomyces albus* gen. nov., sp. nov., a haloalkaliphilic actinobacterium from a soda solonchak soil // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2021. V. 71. Art. 004804.
- Tul'skaya E.M., Streshinskaya G.M., Shashkov A.S., Senchenkova S.N., Avtikh A.N., Baryshnikova L.M., Evtushenko L.I. Novel teichulosonic acid from cell walls of some representatives of the genus *Kribbella* // *Carb. Res.* 2011. V. 346. P. 2045–2051.

Wilson K. Preparation of genomic DNA from bacteria // Current Protocols in Molecular Biology. New York: Wiley, 1997. P. 241–245.

Yoon S.H., Ha S.M., Kwon S., Lim J., Kim Y., Seo H., Chun J. Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database

of 16S rRNA and whole genome assemblies // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2017. V. 67. P. 1613–1617.

Zhao J., Duan L., Qian L., Cao P., Tian Y., Ju H., Xiang W., Wang X. *Kribbella jiaozeuonensis* sp. nov., a novel actinomycete isolated from soil // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2019. V. 69. P. 3500–3507.

Seven New Actinobacterial Species of the Genus *Kribbella* with Unique Cell Wall Glycopolymers, and Emended Description of the Genus *Kribbella*

A. N. Avtukh¹, *, E. V. Ariskina¹, L. M. Baryshnikova¹, E. M. Tul'skaya², N. V. Potekhina², A. S. Shashkov³, N. E. Suzina¹, N. V. Prisyazhnaya¹, I. P. Starodumova¹, O. V. Vasilenko¹, L. V. Dorofeeva¹, and L. I. Evtushenko¹

¹ All-Russian Collection of Microorganisms (VKM), Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, Pushchino Scientific Center for Biological Research, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia

² Faculty of Biology, Moscow State University, Moscow, 119234 Russia

³ Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: avtukh@rambler.ru

Received May 2, 2023; revised May 20, 2023; accepted May 22, 2023

Abstract—Seven actinomycete strains assigned to seven new species of the genus *Kribbella* were isolated from soils of different regions in Russia. The strains exhibited 98.2–99.3% similarity of the 16S rRNA gene sequences to each other and 96.2–99.7% similarity to the type strains of the known *Kribbella* species. The evolutionary distances calculated on the basis of concatenated gene sequences (*gyrB*–*rpoB*–*recA*–*relA*–*atpD*, 4108 nt) for the studied organisms and type strains of the known species were within the range reported for *Kribbella* species (0.014–0.101). The dDDH and ANIb values for the strains studied and the type strains of validly described species with available genomes were below the threshold (49.8 and 92.6%, respectively) for prokaryote specie delineation. Members of the putative new species possessed individual phenotypic profiles; some species were found (for the first time in *Kribbella*) to produce sporangium-like structures, up to 4 μm in diameter. The cell walls of the studied strains contained the teichuronic and/or teichulosonic acids specific for the species or species groups and not described previously for other prokaryotes. The unique branched α-mannan occurred in all studied strains of the genus. Based on the data obtained and the previously published data, the following new species are proposed: *Kribbella orskensis* sp. nov. (type strain BKM Ac-2538^T), *Kribbella rubisoli* sp. nov. (type strain VKM Ac-2540^T), *Kribbella antiqua* sp. nov. (type strain VKM Ac-2541^T), *Kribbella kalugense* sp. nov. (type strain VKM Ac-2570^T), *Kribbella steppae* sp. nov. (type strain BKM Ac-2572^T), *Kribbella pratae* sp. nov. (type strain BKM Ac-2574^T), and *Kribbella voronezhensis* sp. nov. (type strain VKM Ac-2575^T) with emended description of the genus *Kribbella*.

Keywords: genus *Kribbella*, novel species, genome, chemotaxonomy, cell wall glycopolymers