

УДК 34.15.25

МРНТИ 34.15.25

DOI 10.37238/1680-0761.2021.83(3).21

¹Гоголев Ю.В., ²Ермекалиев Т.С.*, ³Султанов Е.С.**¹Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Лаборатория молекулярный биологии, г. Казань, Россия****^{2,3}Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования “Казанский (Приволжский) федеральный университет”, г. Казань, Россия*****Автор-корреспондент: Ermekkaliev_07@mail.ru****E-mail: Gogolev.yuri@gmail.com, Ermekkaliev_07@mail.ru, Sultanov.e.s@list.ru**

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОМА АБК-УТИЛИЗИРУЮЩИХ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ *RHODOCOCCLUS* SP. P1Y И *NOVOSPHINGOBIUM* SP. P6W

Аннотация. Данная статья посвящена механизму микробного катаболизма. С использованием селективной питательной среды, из ризосферы риса (*Oryza sativa*) было выделено два бактериальных штамма, отнесенных к *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W. Штаммы депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ). Геномная последовательность была получена с использованием подхода, объединяющего данные последовательности Oxford Nanopore Technologies MinION и Illumina MiSeq. Было проведено секвенирование тотальной ДНК двух исследованных штаммов. Полученный геном P6W состоит из 6556287 пар нуклеотидов и включает 6009 генов, кодирующих белки, и 54 некодирующих гена РНК. Результаты представлены на сайте NCBI. Геном *Rhodococcus* sp. P1Y состоит из 6722294 пар нуклеотидов и включает 6411 генов, кодирующих белки, и 65 генов рибосомальной, транспортной и некодирующей РНК. Полученные результаты позволили провести функциональную аннотацию основных генов, необходимых для дальнейшего транскриптомного анализа АБК-деструкторов. Уровень идентичности геномов P6W и ближайшего штамма *N. barchaimii* LL02 по ANI-тесту составил 90-90,9%. Результат указывает на то, что штамм P6W является новым видом рода *Novosphingobium*. Видов, тесно связанных со штаммом *Rhodococcus* P1Y, обнаружено не было. Идентичность геномов ближайших видов не превышает 77% (*Rhodococcus kyotonensis*).

Ключевые слова: ризобактерии, геном, штамм, клонирование, экспрессия, ВКСМ, *Novosphingobium*, *Rhodococcus*, PGPR, ACC, NCBI.

Введение

Выяснение физиологических механизмов, с помощью которых ризобактерии усиливают рост растений, часто осложняется тем, что многие из таких бактерий проявляют сразу несколько протекторных и ростстимулирующих свойств. Многие из них действуют через гормональные системы растений. Хорошо изучено влияние на растения продукции



бактериями ауксина, цитокинина, аналогов жасмоновой кислоты. Бактерии могут не только производить фитогормоны, но так же подвергать их деградации и использовать в качестве питательных веществ. До настоящего времени роль микробного метаболизма фитогормонов в растительно-микробном взаимодействии получили относительно мало внимания [1]. Было показано, что многие ризобактерии метаболизируют несколькими биохимическими путями индол-3-уксусную кислоту и предшественник этилена этилен-1-аминоциклопропан-1-карбоновую кислоту (АСС) под действием фермента АСС-деаминазы [2,3]. Интерференция бактерий в другие гормональные системы практически не исследована. Абсцизовая кислота важна для многих аспектов роста и развития растений, в том числе, для регуляции газообмена, созревания и прорастания семян, инициации адаптивных изменений, происходящих под влиянием абиотических стрессовых факторов. В связи с этим ее часто называют гормоном стресса. Недавно было показано, что некоторые микроорганизмы также синтезируют и разлагают АБК, внося свой вклад во взаимоотношения между растением и его патогенами [4]. Засуха, засоление почв, низкие температуры и атака фитопатогенов являются главными стрессовыми факторами, ингибирующими рост растений и не позволяющими реализовать их генетический потенциал [5]. Адаптация растений к абиотическим факторам регулируется главным образом фитогормоном абсцизововой кислотой. Хотя в настоящее время наибольшее внимание сфокусировано на регуляции накопления АБК в растениях, ее снижение так же критично для развития и стрессового ответа растений. Рост-стимулирующие ризосферные бактерии (plant-growth-promoting rhizobacteria, PGPR) могут усиливать рост растений благодаря продукции ауксинов и цитокининов или утилизации предшественника этилена 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК) с помощью фермента АЦК дезаминазы либо другого ингибитора роста АБК [6].

Продуцирование и утилизация бактериями ауксинов хорошо изучены в отношении биохимии, и участвующих в этих процессах генов. Информация об утилизации других фитогормонов ризобактериями очень фрагментарна, а микробная биодеструкция АБК практически не изучена. С другой стороны, известно, что фитопатогенные грибы способны продуцировать АБК. В некоторых исследованиях показано ключевое значение продукции АБК для патогенности грибов. В этой связи было высказано предположение, что снижение концентрации АБК в результате деятельности почвенных бактерий может служить механизмом их биопротекторного влияния на развитие грибных заболеваний. Однако, до последнего времени ничего не было известно о микробном катаболизме АБК, что определяет необходимость улучшения данного явления [7]. Так же отсутствует информация о генетических детерминантах данного процесса, механизмах его регуляции и распространенности среди симбиотических микроорганизмов. Вместе с тем, важная роль АБК в жизнедеятельности растений определяет необходимость изучения данного явления.

Методы исследования

В работе применены классические и современные методы биохимии, цитологии, микробиологии, молекулярной биологии и биоинформатики.

Объектом исследования были два штамма АБК-утилизирующих *Novosphingobium* sp. P6W и *Rhodococcus* sp. P1Y, представляющих грамположительные и грамотрицательные бактерии. Штаммы и векторы, использованные для молекулярного клонирования представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Штаммы и векторы для клонирования бактерий *Novosphingobium* sp. P6W и *Rhodococcus* sp. P1Y.

Название штамма или вектора	Генотип	Назначение
<i>E. coli</i> NovaBlue	<i>endA1 hsdR1 7(г_{K1}²⁻ м_{K1}²⁺) supE44 thi⁻¹ recA1 gyrA96 relA1 lac F'[proA⁺B⁺lacIqZΔM15::Tn10(Tc^R)]</i>	Клонирование
pET-32a(+)	AmpR, C- His Tag	Экспрессия
pET-51b(+)	AmpR, Strep.Tag II	Экспрессия

В работе предложены оригинальные среды для выделения и изучения свойств бактерий: Культуры клеток *E. coli* выращивали в следующих средах: SOC и Luria-Bertani (LB) [8]. Выделение плазмидной ДНК из клеток *E. coli* проводили с помощью коммерческого набора для выделения плазмидной ДНК АхуPrepPlasmid Miniprep Kit (Ахуген, США) по рекомендованному производителем протоколу. Концентрацию ДНК определяли спектрофотометрически на приборе NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, США). Амплификация фрагментов ДНК контролировали с помощью амплификатора DNA Engine (Bio-Rad, США). Анализ продуктов ПЦР проводили после их электрофоретического разделения в агарозном геле с концентрацией агарозы 1%. Для клонирования использовали клетки штамма *E. coli* NovaBlue. Для поиска нуклеотидных последовательностей генов и плазмид использовали web-ресурсы сайта NCBI, базу данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>).

Для подготовки библиотек использовали NEBNext Ultra Directional RNA Library Prep Kit for Illumina. Секвенирование, сборка и аннотация генома выполнен с применением подходов сравнительной и функциональной геномики методами из арсенала NGS. Для улучшения качества геномной сборки и исходя из экономической целесообразности использовано сочетание платформ Illumina MiSeq, Illumina HiSeq и технология одномолекулярного секвенирования в реальном времени (SMRT, PacBio, США). Сборка генома проведена с помощью программного обеспечения SPAdes. Аннотация геномов проведен с использованием ресурсов NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/) и KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, <http://www.genome.jp/kegg/>). Для сравнения общей идентичности нуклеотидной последовательности геномов использовали онлайн ресурс <http://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/#analyse>.

Применяемые методические подходы являются современными, способными предоставить качественно новую информацию о неизвестном ранее биохимическом пути превращения АБК почвенными ризосферными микроорганизмами.

Результаты исследования

На первом этапе были решены задачи по комплексной характеристике двух штаммов АБК-утилизирующих микроорганизмов, представляющих грамположительные и грамотрицательные бактерии. Первичная характеристика была сделана методом Biolog. По результатам исследований, *Rhodococcus* sp. P1Y не может использовать глюкозу в качестве источника углерода, а *Novosphingobium* sp. P6W не способен утилизировать сахарозу. Кроме того, шт. P1Y обладает устойчивостью к засолению, а P6W к антибиотику. Эти данные были использованы при культивировании микроорганизмов, на будущие могут быть востребованы при разработке биоудобрений.

А также проведен анализ жизнеспособности и физиологического состояния культур шт. P1Y и P6W методами посева на твердую питательную среду, бактерии находятся в активном физиологическом состоянии.

*Секвенирование, сборка и аннотация генома АБК-утилизирующих бактерий *Novosphingobium sp. P6W**

Полученный нами геном состоит из 6556287 пар нуклеотидов и включает 6009 генов, кодирующих белки и 54 гена некодирующих РНК. Краткий обзор результатов расшифровки генома шт. P6W приведен в таблице 2.

Таблица 2 - Основные параметры генома *Novosphingobium sp. P6W* (6666666.294713)

Genome	Novosphingobium sp P6W
Domain	Bacteria
Taxonomy	Bacteria; Novosphingobium sp P6W
Size	6,556,287
GC Content	63.7
N50	1331214
L50	2
Number of Contigs (with PEGs)	5
Number of Subsystems	452
Number of Coding Sequences	6009
Number of RNAs	54

Графическое представление распределения генов по функциональным категориям инструментами RAST дано на рисунке 1.

Subsystem Information

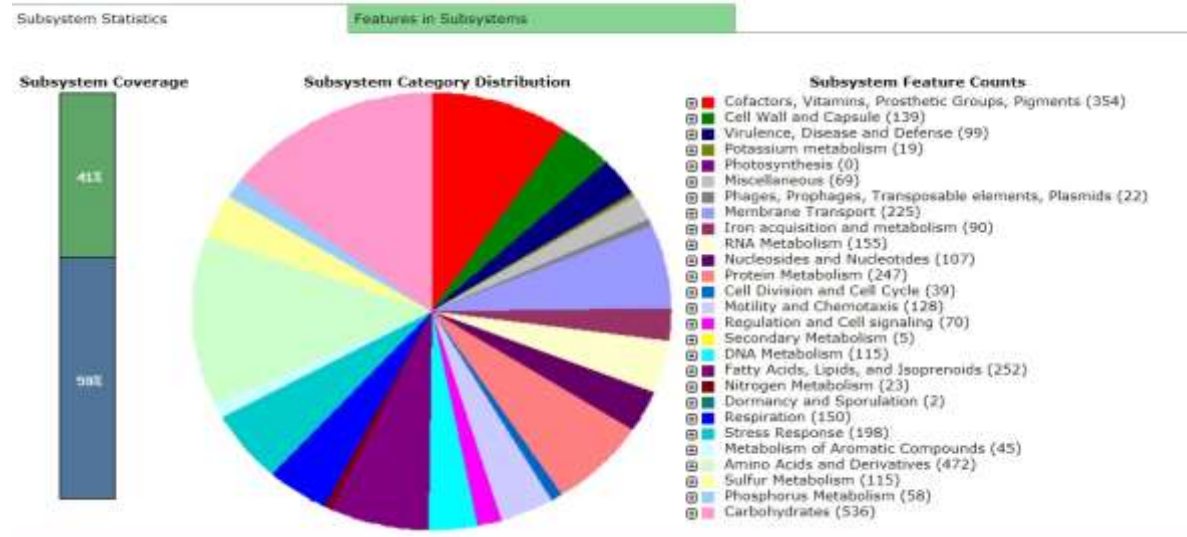


Рисунок 1 - Распределение генов *Novosphingobium sp. P6W* по функциональным категориям по алгоритму RAST. Составлен автором по [9].

*Секвенирование, сборка и аннотация генома АБК-утилизирующих бактерий *Rhodococcus sp. P1Y**

Секвенирование и сборка генома *Rhodococcus* sp. P1Y проведены по упрощенной схеме, обеспечивающей результаты, необходимые для выполнения основных задач. Характеристики полученного генома сборки представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Основные параметры генома *Rhodococcus* sp. P1Y.

Genome	<i>Rhodococcus</i> sp. P1Y
Domain	Bacteria
Taxonomy	Bacteria; <i>Rhodococcus</i> sp P1Y
Size	6,722,294
GC Content	63.1
N50	79752
L50	27
Number of Contigs (with PEGs)	800
Number of Subsystems	430
Number of Coding Sequences	6411
Number of RNAs	65

Геном состоит из 6722294 пар нуклеотидов и включает 6411 генов, кодирующих белки и 65 генов некодирующих РНК. Результаты, полученные на данном этапе позволили провести функциональную аннотацию, необходимую для дальнейшего транскриптомного анализа АБК-утилизирующих культур P1Y (рис. 2).

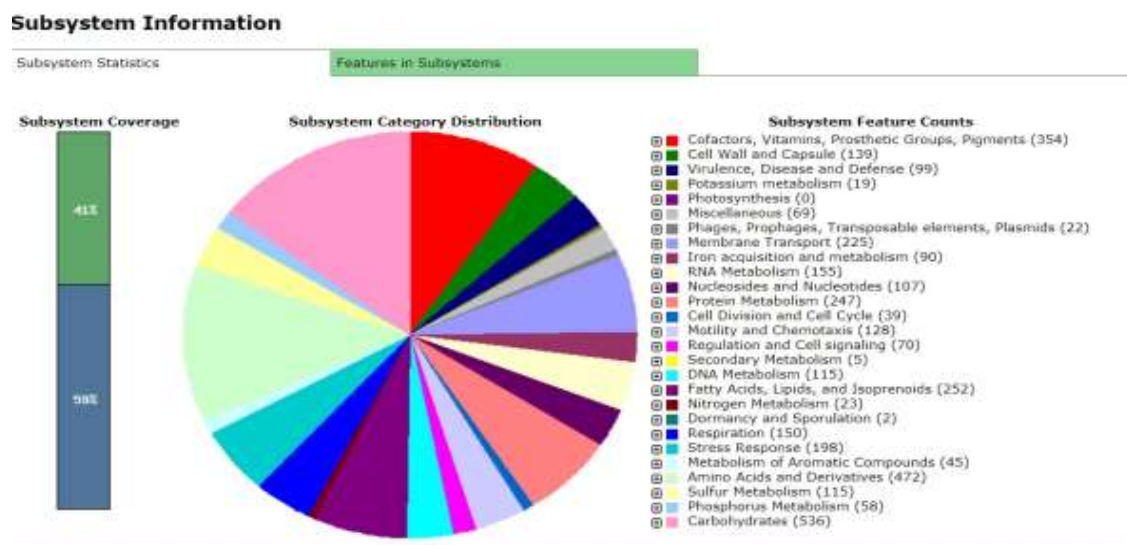


Рисунок 2 - Распределение генов *Rhodococcus* sp. P1Y по функциональным категориям по алгоритму RAST. Составлен авторами по [9].

Сравнение геномов АБК-утилизирующих бактерий

Современные средства биоинформатики позволяют визуализировать процессы на уровне микро- и макроэволюции. Результаты применения одной из таких программ Mauve (<http://darlinglab.org/mauve/mauve.html>) показывают структурные различия геномов P6W и близкородственного микроорганизма *N. barchaimii* LL02 (рис. 3).

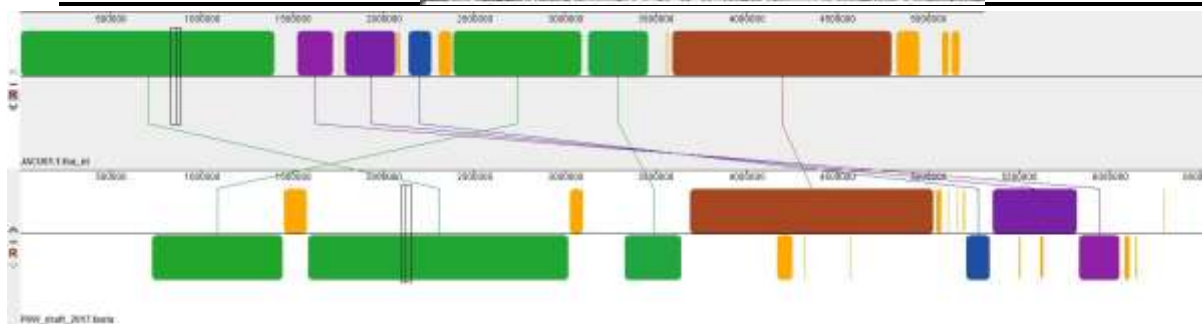


Рисунок 3 - Сравнение геномов *Novosphingobium* sp. P6W (JXZE00000000) и *N. barchaimii* LL02 (JACU00000000) с помощью программы Mauve. Составлен авторами по (<http://darlinglab.org/mauve/mauve.html>).

На рисунке отражено соответствие отдельных участков геномов и их топология друг относительно друга. Очевидно, что оба штамма имеют сходные геномные локусы (коллинеарных блоки), которые подверглись перестановкам и инверсиям. Кроме того, можно проследить возникновение инсерций и делеций. В настоящее время по критерию ANI микроорганизмы относятся к одному виду, если степень идентичности их геномов превышает 95 %. Согласно филогенетическому дереву, построенному на основании последовательности 16S рРНК, наиболее близким видом для P6W является *Novosphingobium barchaimii* LL02 (NCBI Reference Sequence: NZ_LDRW00000000.1). По результатам ANI теста степень идентичности между P6W и *N. barchaimii* LL02 составляет 90,02-90,9%. Полученный результат подтверждает предположение, что шт. P6W представляет собой новый вид рода *Novosphingobium*.

Что касается *Rhodococcus* sp. P1Y, близких видов для этого микроорганизма не выявлено. На рисунке 4 показано, что степень идентичности геномов охарактеризованных видов не превышает 77 % (*Rhodococcus kyotonensis* KB10).

Genome	ANI [%]	Aligned [%]	Aligned [bp]	Total [bp]
<i>Rhodococcus kyotonensis</i> KB10	76.93	57.21	3048459	6727252
<i>Rhodococcus fascians</i> D188	74.44	51.60	3476934	6727252
<i>Rhodococcus jostii</i> RHA1	71.69	41.70	2805553	6727252
<i>Rhodococcus opacus</i> PD630	71.60	42.41	2852965	6727252
<i>Rhodococcus antherivorans</i> (GCA_000982715) Jc6P1	71.02	36.38	2447671	6727252
<i>Rhodococcus rhodochromus</i> KG-21	70.80	35.39	2390911	6727252
<i>Rhodococcus erythropolis</i> (GCA_000975175) BG43	70.76	37.84	2545626	6727252
<i>Rhodococcus qinghaiensis</i> BKS 20-40	70.73	38.16	2567138	6727252

Рисунок 4 - Результаты сравнения геномов бактерий рода *Rhodococcus* по критерию ANI. Для сравнения использованы ресурсы JSpeciesWS.

Таким образом, не вызывает сомнения, что исследуемый штамм принадлежит новому виду бактерий рода *Rhodococcus*.

Заключение

Осуществлена полногеновая сборка геномов АБК-утилизирующих бактерий *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W. Геном *Rhodococcus* sp. P1Y представляет из себя единственную хромосому размером 5868661 п.н., содержащую 5453 гена; геном

Novosphingobium sp. P6W состоит из двух кольцевых хромосом размером 345135 п.н. и 2246020 п.н. и двух мегаплазмид, 720525 и 188672 п.н; общая информационная емкость генома 5663 гена. По результатам ANI теста бактерии *Rhodococcus* sp. P1Y и *Novosphingobium* sp. P6W принадлежат к новым видам родов *Rhodococcus* и *Novosphingobium*.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Dodd, I.C. Zinovkina, N.Y., Safronova, V.I., & Belimov, A.A. Rhizobacterial mediation of plant hormone status // *Annals of Applied Biology*. – 2010 V. 157. – P. 361-379.
- [2] Leveau, J.H.J., Gerards, S. Discovery of a bacterial gene cluster for catabolism of the plant hormone indole 3-acetic acid / J.H.J. Leveau, S. Gerards // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2008. – V. 65 – P. 238-250.
- [3] Glick, B.R. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria / B.R. Glick, Z. Cheng, J. Czarny, J. Duan // *Eur. J. Plant Pathol.* – 2007. – V. 119. – P. 329-339.
- [4] Belimov, A. A. et al. Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth / A.A. Belimov, I.C. Dodd, V.I. Safronova, V.A. Dumova, A.I. Shaposhnikov, A.G. Ladatko, W.J. Davies // *Plant Physiology and Biochemistry*. – 2014. – V. 74. – P. 84-91.
- [5] Sharma, C.M. et al. The primary transcriptome of the major human pathogen *Helicobacter pylori* / S. Hoffmann, F. Darfeuille, J. Reignier, S. Findeiss, A. Sittka, S. Chabas, K. Reiche, J. Hackermuller, R. Reinhardt // *Nature*. – 2010. – T. 464. – №. 7286. – С. 250-255
- [6] Zhu J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants // *Annual Review of Plant Biology*. – 2002. – V. 53. – P. 247-273.
- [7] Spence, C. Bias H. Role of plant growth regulators as chemical signals in plant–microbe interactions: a double edged sword / C. Spence, H. Bias // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2015. – V. (27). – P. 52–58.
- [8] Glover, D. *DNA Cloning. Methods* / D. Glover. - M: Peace. - 1998. - p.538
- [9] Overbeek, R. et al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST) / R. Overbeek, R. Olson, G. D. Pusch, G. J. Olsen, J. J. Davis, T. Disz, R. Stevens // *Nucleic acids research*. – 2014. – T. 42. – №. D1. – С. D206-D214.
- [10] Web-ресурсы сайта NCBI, базу данных GenBank [Электронный ресурс]. – Режим доступа: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>).
- [11] Web-ресурсы сайта NCBI, базу данных Prokaryotic Genome Annotation Pipeline [Электронный ресурс]. – Режим доступа: (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/)
- [12] Web-ресурсы сайта NCBI, базу данных KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.genome.jp/kegg/>).
- [13] Для сравнения общей идентичности нуклеотидной последовательности геномов использовали онлайн ресурс [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/#analyse>.

REFERENCES

- [1] Dodd, I.C. Zinovkina, N.Y., Safronova, V.I. & Belimov, A.A. (2010) Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*, Vol. 157, 361-379 [in English].
- [2] Leveau, J.H.J. & Gerards S. (2008) Discovery of a bacterial gene cluster for catabolism of the plant hormone indole 3-acetic acid. *FEMS Microbiol. Ecol.* Vol. 65, 238-250 [in English].
- [3] Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J. & Duan, J. (2007) Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* Vol. 119, 329-339 [in English].

- [4] Belimov A.A. et al. (2014) Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth. *Plant Physiol. Biochem.* Vol. 74, 84-91 [in English].
- [5] Sharma, C.M. et al. (2010) The primary transcriptome of the major human pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*. Vol. 464, 7286, 250-255 [in English].
- [6] Zhu J.K. (2002) Salt and drought stress signal transduction in plants // *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 53, 247-273 [in English].
- [7] Spence, C. & Bias, H. (2015) Role of plant growth regulators as chemical signals in plant–microbe interactions: a double edged sword. *Current Opinion in Plant Biology*. Vol. 27, 52–58 [in English].
- [8] Glover, D. (1998) *DNA Cloning. Methods. M: Peace*, 538 [in English].
- [9] Overbeek, R. et al. (2014) The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic acids research*. Vol. 42 [in English].
- [10] NCBI Web Resources, GenBank Database - Retrieved from (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/>).
- [11] NCBI Web Resources, Prokaryotic Genome Annotation Pipeline - Retrieved from (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/annotation_prok/)
- [12] NCBI Web Resources, KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Database - Retrieved from <http://www.genome.jp/kegg/>).
- [13] Web resources of the site, to compare the general identity of the nucleotide sequence of genomes, an online resource was used - Retrieved from (<http://jspecies.ribohost.com/jspeciesws/#analyse>).

Гоголев Ю.В., Еремеккалиев Т.С., Султанов Е.С.

RHODOCOCCLUS SP. P1Y ЖӘНЕ NOVOSPHINGOBIUM SP. P6W АБК-УТИЛИЗАТОР РИЗОСФЕРАЛЫҚ БАКТЕРИЯЛАРЫНЫҢ ГЕНОМЫН ЗЕРТТЕУ

Андатпа. Бұл мақала микробтық катаболизм механизміне арналған. Селективті коректік ортаны қолдана отырып, күріштің ризосферасынан (*Oryza sativa*) *Rhodococcus* sp деп аталатын екі бактериялық штамм бөлінді. P1Y және *Novosphingobium* sp. P6w. штаммдар Ауыл шаруашылығы мақсатындағы пайдалы микроорганизмдердің ведомстволық коллекциясына (ВКСМ) сақтауға қойылған. Геномдық реттілік Oxford Nanopore Technologies MinION және Illumina MiSeq тізбектік деректерін біріктіретін тәсіл арқылы алынды. Зерттелген екі штаммның тотаттық ДНҚ реттілігі жүргізілді. Алынған P6W геномы 6556287 жұп нуклеотидтерден тұрады және ақуыздарды кодтайтын 6009 генді және 54 кодталмайтын РНҚ генін қамтиды. Нәтижелер NCBI сайтында ұсынылған. *Rhodococcus* sp геномы. P1Y 6722294 жұп нуклеотидтерден тұрады және ақуыздарды кодтайтын 6411 генді және рибосомалық, көліктік және кодталмайтын РНҚ-ның 65 генін қамтиды. Алынған нәтижелер АБК деструкторларын одан әрі транскриптомдық талдау үшін қажетті негізгі гендердің функционалды аннотациясын жүргізуге мүмкіндік берді. P6W геномдарының және ANI-тест бойынша *N. barchaimii* H02 штаммының сәйкестілік деңгейі 90-90,9% құрады. Нәтиже p6w штаммы *Novosphingobium* тұқымының жаңа түрі екенін көрсетеді. *Rhodococcus* p1y штаммымен тығыз байланысты түрлер табылған жоқ. Жақын түрлердің геномдарының сәйкестігі 77% - дан аспайды (*Rhodococcus kyotonensis*).

Кілт сөздер: ризобактерия, геном, штамм, клондау, экспрессия, ВКСМ, *Novosphingobium*, *Rhodococcus*, PGPR, ACC, NCBI.

**Gogolev Yuri, Ermekkaliev Taras, Sultanov Yerzhan****STUDY OF THE GENOME OF ABC-UTILIZING RHIZOSPHERIC BACTERIA
RHODOCOCCUS SP. P1Y AND NOVOSPHINGOBIUM SP. P6W**

Annotation. This article is devoted to the mechanism of microbial catabolism. Using a selective nutrient medium, two bacterial strains attributed to *Rhodococcus* sp. P1Y and *Novosphingobium* sp. P6W were isolated from the rhizosphere of rice (*Oryza sativa*). The strains were deposited in the Departmental Collection of Useful Microorganisms for Agricultural Purposes (VKSM). The genomic sequence was obtained using an approach combining sequence data from Oxford Nanopore Technologies MinION and Illumina MiSeq. The total DNA of the two strains studied was sequenced. The resulting P6W genome consists of 6556287 nucleotide pairs and includes 6009 protein-coding genes and 54 non-coding RNA genes. The results are presented on the NCBI website. The genome of *Rhodococcus* sp. P1Y consists of 6722294 nucleotide pairs and includes 6411 protein-coding genes and 65 ribosomal, transport and non-coding RNA genes. The obtained results made it possible to carry out a functional annotation of the main genes necessary for further transcriptomic analysis of ABK-destroyers. The level of identity of the genomes of P6W and the nearest strain of *N. barchaimii* LL02 according to the ANI test was 90-90.9%. The result indicates that strain P6W is a new species of the genus *Novosphingobium*. No species closely related to the *Rhodococcus* P1Y strain were found. The genome identity of the closest species does not exceed 77% (*Rhodococcus kyotonensis*).

Keywords: Rhizobacteria, genome, strain, cloning, expression, HCCM, *Novosphingobium*, *Rhodococcus*, PGPR, AC, NCBI.