Phylogenetic analysis of vertically and horizontally acquired genes responsible for salt tolerance in nitrogen-fixing alphaproteobacteria

Muntyan V.S., Muntyan A.N., Simarov B.V., Roumiantseva M.L.

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology (ARRIAM), St. Petersburg, Russia

E-mail: vucovar@yandex.ru

Key message. The analysis of salt tolerance genes in the genomes of N-fixing α -proteobacteria showed that different groups of genes could be multicopied, located on several replicons, and horizontally and / or vertically transferred and acquired.

Keywords: salt tolerance, N-fixing α -proteobacteria, phylogenetic analysis, gene groups

Plant-microbial N-fixing systems under modern conditions of global climate change are suffered from a such abiotic stress factor as soil salinization. At the same time, knowledge about the effect of salt stress on soil bacteria is weakly known. The mechanisms of the salt tolerance of microorganisms are quite fully studied on the model object *E. coli*. It has been shown that genes involved in shock and prolonged salt expose are encoding proteins. The aim of the study was structural and phylogenetic analysis of groups of genes responsible for salt tolerance in nitrogen-fixing representatives of α -proteobacteria, which genomes were sequenced.

Groups of genes involved related to salt shock and prolonged salt stress were studied in the 14 strains representatives of nitrogen-fixing α -proteobacteria: *Sinorhizobium* spp., *Rhizobium* spp., *Mesorhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp. And *Azorhizobium caulinodans*. Groups of studied genes which are responsible for: synthesis of aquaporins (*aqp*), potassium accumulation (*kup*, *kdp* and *trk*) and its excretion (*kef*), responding to shock stress and for the accumulation of osmoprotectors (*tre*, *ots*, *opu* / *cho*, *pro*, *bet*), which are important for prolonged salt stress.

It was been established that genes *aqp*, *kup*, *trk*, *tre*, *bet* are present in several copies in studied genomes; genes *aqp*, *kup*, *trk*, *kef*, *ots*, *opu*, *pro*, *bet* (except for *kdp* and *tre*) are located on different replicons and they are not organized into operons and showed different levels of amino acid sequence homology (compared to *E. coli* from 34 to 80%). It was established that *betB* / *betB2* can have orthologous copies, which were probably obtained as a result of horizontal (*betC*) and vertical transfer (*betABI*).

N-fixing alphaproteobacteria are mutualistic symbionts and endophytes of legumes and cereals, the combination of saprophytic and symbiotic lifestyles led to the accumulation of a large number of genes, probably of different origin, which products have structural differences, while confirmation of their functional differences requires additional studies.

The full-genome sequencing of native strains of *Sinorhizobium meliloti* was done by financial support of RSF 17-16-01095, a comparative genomic analysis of the genes was carried out by financial support of RFBR 18-04-01278.

Филогенетический анализ вертикально и горизонтально наследуемых генов, ответственных за солеустойчивость азотфиксирующих альфа-протеобактерий

Мунтян В.С., Мунтян А.Н., Симаров Б.В., Румянцева М.Л.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ARRIAM), Санкт-Петербург, Россия.

Аннотация. Анализ генов солеустойчивости в геномах N-фиксирующих α -протеобактерий, показал, что разные группы генов могли быть многокопийными, расположенными на нескольких репликонах, горизонтально и/или вертикально перенесенными.

Ключевые слова: солеустойчивость, N-фиксирующие α -протеобактерии, филогенетический анализ, группы генов

Растительно-микробные N-фиксирующие системы в современных условиях глобального изменения климата все чаще оказываются под влиянием абиотического фактора - засоление почв. Вместе с тем, знания о влиянии солевого стресса непосредственно на почвенные бактерии фрагментарны. Механизмы солеустойчивости микроорганизмов достаточно полно изучены на модельном объекте *E. coli*. Показано, эти системы представляют собой систему генов, кодирующих белки, участвующие в этапах (шок и длительный солевой стресс) ответа на солевой стресс. Цель исследования заключалась в структурном и филогенетическом анализе групп генов, вовлеченных в формирование солеустойчивости, у азотфиксирующих представителей α -протеобактерий, геномы которых секвенированы.

Изучены группы генов, вовлеченные в стадии солевого стресса (шок и длительный солевой стресс), у 14 штаммов – представителей N-фиксирующих α -протеобактерий: *Sinorhizobium* spp., *Rhizobium* spp., *Mesorhizobium* sp., *Bradyrhizobium* sp. И *Azorhizobium caulinodans*. Группы исследованных генов: кодируют аквапорины (*aqp*), системы накопления (*kup*, *kdp* и *trk*) и выделения калия (*kef*), ответственные за ответ на шоковый стресс и за накопление осмопротекторов (*tre*, *ots*, *opu*, *pro*, *bet*), функционирующие во время длительного солевого стресса.

Установлено, что гены *aqp*, *kup*, *trk*, *tre*, *bet* представлены в нескольких копиях в геноме; гены *aqp*, *kup*, *trk*, *kef*, *ots*, *opu*, *pro*, *bet* (кроме *kdp* и *tre*) расположены на разных репликонах, не организованы в опероны, имеют разные уровни гомологии аминокислотных последовательностей (по сравнению с *E.coli* от 34 до 80%). Показано, что *betB*/*betB2* могут иметь ортологичные копии, которые, вероятно, были получены в результате горизонтального (*betC*) и вертикального переноса (*betABI*).

N-фиксирующие α -протеобактерии являются мутуалистическими симбионтами и эндофитами бобовых и злаковых трав, сочетание сапрофитного и симбиотического образа жизни привело к накоплению большого количества генов, вероятно, различного происхождения, продукты которых имеют структурные различия, в то время как подтверждение их функциональных различий требует дополнительных исследований.

Полногеномное секвенирование штаммов *Sinorhizobium meliloti* финансово поддержано РНФ 17-16-01095, сравнительный геномный анализ генов – РФФИ 18-04-01278.