Sequencing and analysis of genomes of bacteria used to protect plants and animals from diseases

Valentovich L.N., Muratova A.A., Shavela Yu.V., Sikolenko M.A. Akhremchuk A.E.

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

E-mail: valentovich@mbio.bas-net.by

Key message. The main stages of work with perspective strains for protecting plants and animals from diseases are presented: genome sequencing and analysis, genetic construction of improved strains and checking their survival under model conditions.

Keywords: sequencing, genome, bacteria, bioagents

According to the United Nations Food and Agriculture Organization (FAO), in recent decades the acceleration of agricultural productivity growth has been constrained by the degradation of natural resources, declining biodiversity, and the spread of plant and animal diseases, mainly due to the emergence of pathogens with antimicrobial resistance [1]. At the same time, toxicological criteria for the use of synthetic chemicals to protect plants and animals from diseases are being made more rigorous. Therefore, at present the most promising approach is the use of biological agents, since many microorganisms are able to produce a number of biologically active substances, as well as can more successfully occupy ecological niches typical for pathogens, thereby displacing the pathogenic organisms [2, 3].

The aim of the work was to perform a full genomic analysis of several bacterial strains (*Bacillus* and *Pseudomonas* genera) selected with physiological and biochemical methods. It will make possible to consciously use perspective strains for further work on the development of next generation agents to protect plants and animals from diseases.

Methods: full genome sequencing with MiSeq (Illumina) and MinION (Oxford Nanopore Technologies) instruments, bioinformatic analysis of nucleotide sequences, genetic engineering of bacterial strains.

Bioinformatic analysis of genomes of *Bacillus velezensis* K9, *Bacillus pumilus* B 263D and *Pseudomonas brassicacearum* S-1 bacteria showed the absence of genes encoding pathogenicity factors and revealed a number of genetic loci supposedly responsible for antagonistic properties. With the help of random and site-directed mutagenesis of *P. brassicacearum* S-1 bacteria it was possible to study the regulation of target genes and develop strains with improved industrial-valuable properties. Further, with the help of transgenesis, labeled bacteria capable of autofluorescence were obtained. It promoted the research of survival and localization of tested strains in model biotopes.

Секвенирование и анализ геномов бактерий, используемых для защиты растений и животных от болезней

Валентович Л.Н., Муратова А.А., Шавела Ю.В., Сиколенко М.А. Охремчук А.Э.

Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Представлены основные этапы работы с перспективными штаммами для защиты растений и животных от болезней: секвенирование и анализ генома, генетическое конструирование улучшенных штаммов, проверка их выживаемости в модельных условиях.

Ключевые слова: секвенирование, геном, бактерии, биопрепараты

По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO) за последние десятилетия ускорение роста продуктивности сельского хозяйства сдерживается деградацией природных ресурсов, сокращением биоразнообразия, и распространением болезней растений и животных, в основном из-за появления устойчивых к противомикробным препаратам патогенов [1]. В то же время ужесточаются токсикологические критерии применения химических веществ синтетического происхождения для защиты растений и животных от болезней. Поэтому на данный момент наиболее перспективным подходом является использование препаратов биологического происхождения, так как многие микроорганизмы способны продуцировать ряд биологически активных веществ, а также могут более успешно занимать экологические ниши, свойственные патогенам, тем самым вытесняя последних [2, 3].

Целью работы было осуществление полногеномного анализа ряда отобранных с помощью физиолого-биохимических методов бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas*, что позволит осознанно использовать перспективные штаммы для дальнейшей работы по созданию препаратов следующего поколения для защиты растений и животных от болезней.

Методы: полногеномное секвенирование с помощью приборов МайСек (Иллюмина) и МинИОН (Оксфорд Нанопор), биоинформатический анализ нуклеотидных последовательностей, генно-инженерное конструирование бактериальных штаммов.

Биоинформатический анализ геномов бактерий *Bacillus velezensis* K9, *Bacillus pumilus* B-263Д и *Pseudomonas brassicacearum* S-1 позволил показать отсутствие генов, кодирующих факторы патогенности и выявить ряд генетических локусов, предположительно ответственных за проявление антагонистических свойств. С помощью случайного и направленного мутагенеза бактерий *P. brassicacearum* S-1 удалось проследить регуляцию целевых генов и получить штаммы с улучшенными промышленно ценными свойствами. В дальнейшем, с помощью трансгенеза были получены меченные бактерии, способные к автофлуоресценции, что способствовало изучению выживания и локализации тестируемых штаммов в модельных биотопах.

1. Будущее продовольствия и сельского хозяйства: тенденции и актуальные задачи [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fao.org/3/a-i6644r.pdf>. – Дата доступа: 21.11.2019.

2. Fodor, E. Ecological niche of plant pathogens / E. Fodor // Ann. For. Res. – 2011. – Vol. 54, № 1. – P. 3-21.

3. Markowiak, P. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition / P. Markowiak, K. Śliżewska // Gut Pathog. – 2018. – Vol. 10 – P. 21.