

ВЫДЕЛЕНИЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СТРАТЕГИЯ ВЫЖИВАНИЯ ГАЛОТОЛЕРАНТНОГО ШТАММА *DIETZIA MARIS* MX2 ИЗ ЯКШИНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ СОЛЕЙ

© 2024 г. М. А. Харитонов^{а, *}, Ф. Г. Куприянова-Ашина^а, Т. Р. Шакиров^б,
М. С. Вафина^б, О. Н. Ильинская^а

^аКазанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, 420008, Россия

^бАО “Центральный Научно-Исследовательский Институт геологии нерудных полезных ископаемых”
Казань, 420097, Россия

*e-mail: Maya_Kharitonova@mail.ru

Поступила в редакцию 13.07.2023 г.

После доработки 06.09.2023 г.

Принята к публикации 06.09.2023 г.

Галотолерантные микроорганизмы обладают высоким биотехнологическим потенциалом. Они являются продуцентами биологически активных веществ, стрессозащитных средств, гидролитических ферментов, используются для биоремедиации окружающей среды. Вместе с тем, характеристика новых галотолерантных бактерий и установление стратегий их солеустойчивости являются актуальными фундаментальными задачами. В настоящей работе из скважинного рассола Якшинского месторождения калийно-магниевых солей был выделен бактериальный штамм MX2. Изолят представлен не образующими спор аэробными грамположительными неподвижными бактериями, морфология которых варьирует от кокков до коротких палочек, способных к формированию V-образных форм. Колонии округлые, имеют ровные края и приподнятый центр, блестящие, оранжевого цвета. Бактерии штамма MX2 являются галотолерантными и способны к росту при концентрации NaCl до 9%. Геном штамма MX2 был секвенирован. Его размер составил 3747717 п.о., число белок-кодирующих генов — 3562. Изолят был идентифицирован как принадлежащий к виду *Dietzia maris* на основании анализа последовательностей генов *16S rRNA*, *gyrB*, *groB*, *recA*, *rrk*, а также с помощью времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS). *D. maris* MX2 обладает полными метаболическими путями синтеза эктоина, гидроксiekтоина и трегалозы, а также системами транспорта эктоина, гидроксiekтоина, трегалозы, глицерина, глицерин-3-фосфата, L-пролина и глицин-бетаина. Таким образом, для обеспечения осмотического баланса *D. maris* MX2 использует стратегию накопления совместимых органических растворенных веществ.

Ключевые слова: *Dietzia*, галотолерант, стратегия адаптации, эктоин, трегалоза

DOI: 10.31857/S0026365624010032

В микробных сообществах, адаптированных к жизни при высоких концентрациях солей, представлены все три домена жизни — археи, бактерии и эукариоты (Oren, 2016). Галофильные и галотолерантные бактерии обладают различными типами метаболизма и принадлежат к разным филогенетическим ветвям. В их числе аэробные гетеротрофные и анаэробные фототрофные гаммапротеобактерии, сульфатредуцирующие анаэробные дельтапротеобактерии и различные представители типов *Cyanobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Spirochaetes* (Ventosa et al., 1998).

При всем разнообразии механизмов противостояния низкой водной активности соляных сред существует две основные стратегии обеспечения осмотического баланса между цитоплазмой клеток

и средой обитания: (1) “много соли внутри (high salt-in)” — стратегия соленакопления при которой в цитоплазме облигатных галофилов поддерживаются высокие концентрации KCl, а весь внутриклеточный аппарат адаптирован для функционирования в присутствии высоких концентраций солей; (2) “мало соли внутри (low salt-in)” — стратегия накопления растворимых органических веществ, так называемых совместимых растворов (compatible solutes). Накопление осуществляется в результате процессов активного транспорта молекул из внешней среды, а также синтеза *de novo* (Oren, 2016). Такие растворенные вещества представляют собой незаряженные или цвиттерионные молекулы, которые не влияют на процессы метаболизма. Существует множество совместимых растворенных

веществ, среди которых аминокислоты, сахара, полиолы и их производные, а также азотсодержащие соединения (Hagemann et al., 2016). Преобладающими совместимыми растворами умеренных галофилов являются такие производные аминокислот как эктоин и глицин-бетаин (Waditee-Sirisattha et al., 2016). Вторая стратегия способна обеспечить высокую адаптивность микроорганизмов к изменениям солености среды, поскольку изменения внутриклеточных концентраций совместимых растворенных веществ не оказывают отрицательного воздействия на активность внутриклеточных ферментов (Gunde-Cimerman et al., 2018).

Среды обитания галофильных и галотолерантных бактерий многочисленны, к ним относятся моря, океаны, соляные озера, солончаки (Ogen et al., 2016). Гиперсалиновые среды обитания формируются и в результате антропогенных воздействий, таких как промышленные разработки месторождений калийно-магниевых и натриевых солей. Еще в середине XX века при изучении примесей, обуславливающих красную окраску минералов Верхнекамского месторождения, Н. К. Чудинов обнаружил в рассоле структуры в виде нерастворимых хлопьев, не выпадающих в осадок. Микроскопический анализ показал наличие подвижных структур разнообразной формы, которые Н. К. Чудинов назвал “палеоорганизмами” (Литовский, 2008). Породами палеозоя представлен и осадочный чехол Верхне-Печорского бассейна (Вишняков и соавт., 2018). Исследования нижнепермской соляной толщи южной части Якшинского месторождения Верхне-Печорского калиеносного бассейна свидетельствуют о наличии органической составляющей, которая, помимо флюидных включений жидких углеводородов, представлена бактериями, водорослями, спорами и пылью растений (Шанина и соавт., 2018). Зоны засоления, образующиеся при промышленной добыче и переработке солей, являются местообитанием галофильных и галотолерантных бактерий (Плотникова и соавт., 2001; Корсакова и соавт., 2013; Ястребова и соавт., 2020; Пьянкова и соавт., 2022).

Характеристика новых галофильных и галотолерантных бактерий и установление стратегий осмоадаптации являются актуальными фундаментальными задачами. Кроме того, галотолерантные микроорганизмы находят широкое практическое применение. Они используются для биоремедиации окружающей среды и как продуценты биологически активных веществ, стрессозащитных средств, гидролитических ферментов. Способность к росту в присутствии повышенных концентраций солей позволяет снизить риск микробной контаминации и обуславливает значительную экономию за счет снижения требований к стерильности условий культивирования (Waditee-Sirisattha et al., 2016).

Целью настоящей работы являлось выявление аэробных культивируемых галотолерантных бактерий в скважинном рассоле Якшинского месторождения минеральных солей, определение их таксономического статуса и стратегии выживания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Физико-химический анализ пробы. Отбор образца рассола из скважины № 31 (6144'16" с.ш., 56°36'42" в.д.) Якшинского месторождения произведен после вымывания водорастворимых солей из породы, представленной пластами карналита ($\text{KMgCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) и галита (NaCl) на глубине 412.6–416.0 м. В качестве растворителя использовалась вода из гидрогеологической скважины № 30Г/1 (61°44'15.5" с.ш., 56°36'31.0" в.д.). Образец был предоставлен в.н.с. ФГУП “ЦНИИгеолнефть” А. К. Вишняковым. Измерение содержания элементов в пробе проводили с использованием титриметрического и гравиметрического анализа, а также атомно-эмиссионной спектроскопии (оптический эмиссионный спектрометр с индуктивно-связанной плазмой Optima 4300 DV (“Perkin Elmer”, США). Спектры образцов снимали на инфракрасном Фурье-спектрометре Tensor 27 (“Bruker”, Германия) при скорости сканирования 10 кГц и разрешении 4 см^{-1} . Исследования выполнены методом спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО или ATR, attenuated total reflection). Изображения проб, получали с помощью растрового электронного микроскопа “РЭМ-100У” (Россия) в режиме съемки: $U_{\text{уск}} = 30\text{ кВ}$. Контрастирование производили путем напыления углерода.

Выделение и культивирование микроорганизмов. Выделение микроорганизмов проводили посредством прямого посева образцов скважинного рассола на чашки Петри с агаризованной минеральной солевой средой (МСС) (Nesterenko et al., 1982) с добавлением 0.5% глюкозы и 3% NaCl. Колонии пересевали на среду ГРМ (ТУ 9398–001–78095326–2006). Фиксированные препараты микроорганизмов, окрашенные по Граму, изучали с помощью оптического микроскопа Axiovert 200M (“Carl Zeiss”, Германия). На среде МСС бактерии выращивали при температуре 28°C в течение 72 ч на лабораторных качалках с интенсивностью качания 200 об./мин. Контроль роста культуры осуществляли нефелометрически на КФК-2 при длине волны 590 нм. За единицу биомассы принимали поглощение в 1 см кювете, равное 1. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Excel, рассчитывая среднеквадратичное отклонение (σ). Результаты считали достоверными при $\sigma \leq 10\%$. При расчете достоверности получаемых разностей использовали критерий Стьюдента, принимая $P \leq 0.05$ за достоверный уровень значимости.

MALDI-TOF/MS анализ. Одну колонию суточной культуры микроорганизмов наносили на ячею слайда, затем наносили 1 мкл раствора матрицы (альфа-циано-4-гидроксикоричная кислота) и подсушивали на воздухе в течение 5 мин. Масс-спектрометрический анализ осуществляли с помощью времяпролетного MALDI масс-спектрометра VITEK MS (“BioMerieux”, Франция). Для записи, обработки и анализа масс-спектров использовали программное обеспечение MYLA (“BioMerieux”, Франция).

Определение последовательности гена 16S рРНК. ДНК выделяли с использованием набора FastDNA Spin Kit For Soil (“MP Biomedicals”, США) в соответствии с рекомендациями производителя. ПЦР проводили с использованием пары 16S рДНК-специфичных праймеров 27F и 1492R и набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Детекция продуктов секвенирования проводилась в автоматическом режиме методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 3730 Genetic Analyzer (“Applied Biosystems”, США) на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета.

Полногеномное секвенирование (WGS) осуществляли на платформе Illumina MiSeq (“Illumina”, США) на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета с использованием наборов NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina и MiSeq Reagent Kits v3 (600-Cycle Kit). Сборка генома проводилась с использованием алгоритма SPAdes 3.15.5.

Биоинформационный анализ. Поиск гомологичных последовательностей проводили с использованием баз данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) и EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net>). Филогенетический анализ был проведен с помощью программы MEGA 6 (“MEGA software group”, США). Для построения деревьев использовали метод максимального правдоподобия

(maximum likelihood, ML) с бутстреп-анализом 500 повторов (Tamura et al., 2013). Множественные выравнивания были выполнены с использованием ClustalW. Нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК, генов домашнего хозяйства, а также генов ферментов, участвующих в синтезе и транспорте осмолитов, были получены из базы данных GenBank (NCBI). Сведения о метаболических путях синтеза осмолитов были получены с использованием баз данных Киотской энциклопедии генов и геномов KEGG (Kanehisa, 2000). Сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей проводили с помощью пакета программ BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Сравнительный анализ полногеномных последовательностей проводили путем расчета средней идентичности нуклеотидных последовательностей (average nucleotide identity, ANI) (Rodriguez and Konstantinidis, 2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика образцов скважинного рассола. Содержание H_2O в пробе составило 874.65 г на 1 кг рассола. Преобладающими ионами являлись ионы натрия и хлора. NaCl присутствовал в доле 73.83% и отражал основную составляющую породы — галит (табл. 1).

Доля карналлита ($KMgCl_3 \cdot 6H_2O$) в растворе — 19.76%. Содержание $MgCl_2$ и KCl было примерно одинаково (11.08 и 12.08% соответственно), $CaSO_4$ содержался в меньших количествах (3.79%). Методом растровой электронной микроскопии были получены изображения пробы скважинного рассола (рис. 1).

Образцы представлены частицами неправильной, изломанной формы размером менее 40 мкм, часть их имеет нерезкие оплывшие грани, что характерно для карналлита. Дифференциальным фильтрованием через фильтры Шотта были получены фракции пробы скважинного рассола,

Таблица 1. Количественный химический анализ скважинного рассола и пересчет на солевой и минеральный составы (содержание H_2O в пробе: 874.65 г/кг рассола)

Ионный состав,%					
K ⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻
6.34	28.13	2.83	1.23	58.79	2.68
Солевой состав,%					
KCl	NaCl	MgCl ₂	CaSO ₄		
12.08	73.83	11.08	3.79		
Минеральный состав,%					
KCl (сильвин)	NaCl (галит)	KMgCl ₃ ·6H ₂ O (карналлит)	CaSO ₄ (ангидрит)		
3.41	73.83	19.76	3.79		

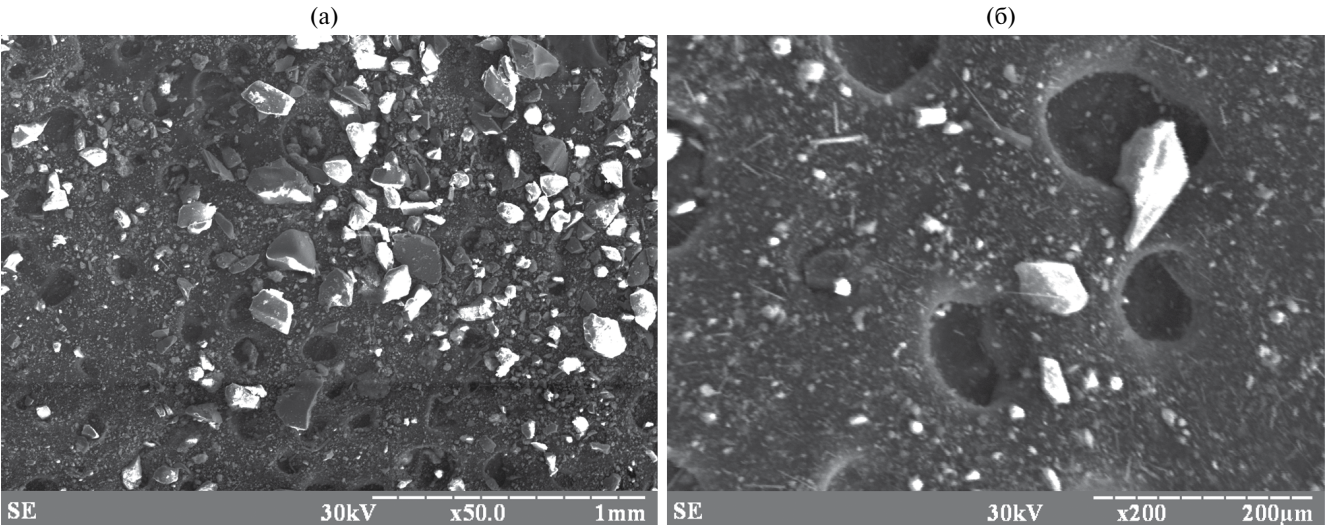


Рис. 1. Изображения пробы скважинного рассола, полученные методом растровой электронной микроскопии при 50-кратном (а) и 200-кратном увеличении (б). Длина масштабных меток: 1 мм (а), 200 мкм (б).

которые исследовались методом инфракрасной спектроскопии (табл. 2, рис. 2).

Во всех фракциях в области 3650–3000 см⁻¹ наблюдали полосы валентных колебаний ОН-, NH- и СН-групп. Разделение полос поглощения в области 3650–3000 см⁻¹ и наличие полосы поглощения при ~1635 см⁻¹ свидетельствуют о наличии NH-связей в образцах 1, 2 и 3. Полосу поглощения при 905 см⁻¹ можно отнести к деформационным колебаниям СН-связей. Минералогическая составляющая образцов проявляется в области 1200–600 см⁻¹. Полосы при 797 и 778 см⁻¹ указывают на большое содержание калиевого полевого шпата и кварца во фракциях 3 и 5. Сравнение ИК-спектров всех фракций показало, что органические вещества присутствуют в исходной пробе 1, а также во фракциях 2 и 6. Отмывка приводила к очищению от органической части.

Выявление и идентификация галотолерантных микроорганизмов в скважинном рассоле. Прямое микроскопирование фиксированных препаратов образцов скважинного рассола показало наличие

в нем объектов в форме кокков и эллипсов (коротких палочек), окрашивающихся по Граму в синий цвет (рис. 3а).

Через 48 ч после посева образцов на солевом агаре появлялись бактериальные колонии трех типов. Преобладали мелкие светло-оранжевые гладкие колонии (8.7×10³ КОЕ/мл), в 4 раза меньше было полупрозрачных колоний молочного цвета (2.1×10³ КОЕ/мл), в незначительном количестве присутствовали матовые колонии с неровным краем (0.7×10² КОЕ/мл). Для дальнейшего исследования были выбраны микроорганизмы, присутствующие в пробе в наибольшем количестве. Их пересев на среду ГРМ приводил к росту выпуклых, блестящих, ярко-оранжевого цвета колоний с ровными краями и приподнятым центром, диаметр которых достигал 3–4 мм на 10 сут культивирования (рис. 3в). Обратная сторона колоний, прилегающая к субстрату, окрашена неравномерно: центр имеет оранжево-желтую окраску, периферия яркого оранжевого цвета. По прошествии двух недель цвет колоний становился кораллово-красным.

Таблица 2. Характеристика фракций проб скважинного рассола, полученных дифференциальным фильтрованием через фильтры Шотта

Фракция	Описание пробы	Полосы поглощения, см ⁻¹
1	Исходная проба, содержащая блески и хлопья	3384, 1637, 1439, 999, 905, 795, 631
2	Блески и хлопья, выделенные фильтрацией (S00, 250–500)	3377, 3242, 1635, 1005, 798, 628
3	Отмытые блески и хлопья (S0, 160–250)	3395, 1638, 1439, 992, 797778, 746, 695, 643
4	Отмытые хлопья (S1, 100–160)	3110, 1639, 1450, 1001, 906, 795, 631
5	Отмытые блески (S2, 40–100)	3355, 2922, 1460, 992, 191ДП, 645
6	Раскристаллизованный раствор фильтрации (S3, 16–40)	3377, 3243, 1634, 1113, 1006

Примечание. В скобках указаны класс и пористость фильтров Шотта в мкм.

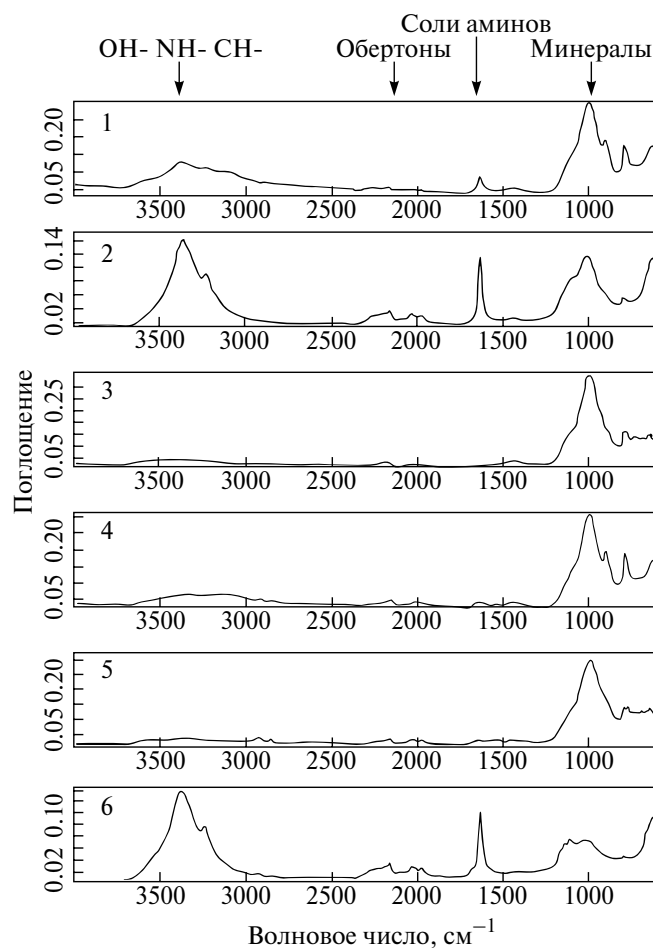


Рис. 2. ИК-спектры фракций пробы скважинного рассола, полученных дифференциальным фильтрованием через фильтры Шотта.

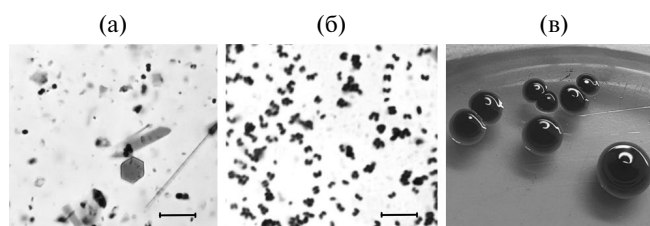


Рис. 3. Выявление микроорганизмов в скважинном рассоле: прямое микроскопирование фиксированного препарата образца скважинного рассола (а); микроскопирование *D. maris* MX2 (б); колонии *D. maris* MX2 на агаризованной среде ГРМ (в). Длина масштабной метки 5 мкм.

Микроскопия окрашенных по Граму фиксированных препаратов показала, что колонии состоят из грамположительных не споровых кокковых и эллипсоидных клеток, образующих V-образные формы (рис. 3б). Для определения интервала галотолерантности штамм MX2 выращивали в среде МСС с добавлением NaCl в диапазоне концентраций от 1 до 10% (рис. 4).

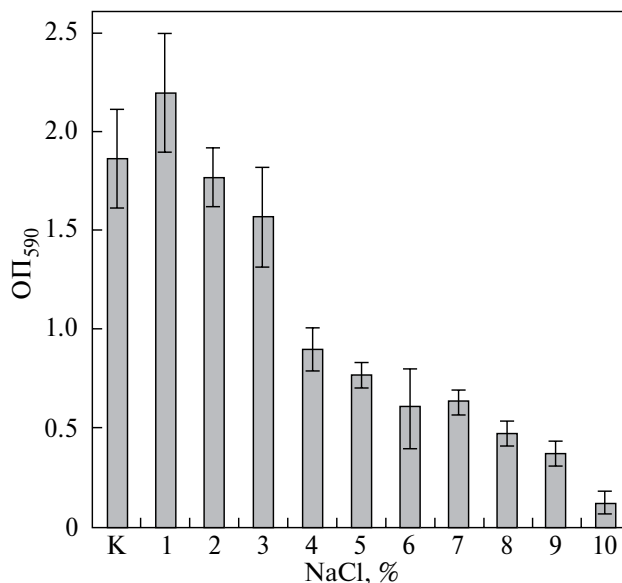


Рис. 4. Влияние различных концентраций NaCl на рост *D. maris* MX2. К — культивирование в минеральной солевой среде МСС, содержащей 0.1% NaCl.

Установлено, что оптимальными являются концентрации NaCl до 3%; вместе с тем, штамм MX2 способен к росту в присутствии 4–9% NaCl. Увеличение концентрации соли выше оптимальной приводило к снижению интенсивности роста в 2–8 раз. Поскольку в образцах скважинного рассола ионы натрия и хлора преобладали, а концентрация NaCl составила 9.2%, можно предположить, что штамм MX2 способен к жизнедеятельности в гиперосмотических условиях, создающихся в рассоле в результате вымывания солей из породы.

В результате MALDI-TOF-MS анализа было установлено, что исследуемый микроорганизм является представителем актинобактерий — *Dietzia maris* с показателем достоверности идентичности белковых профилей 99.9. Была проведена молекулярно-генетическая идентификация штамма MX2 посредством анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Последовательность гена 16S рРНК была депонирована в базе данных GenBank NCBI под регистрационным номером ON527787, ее длина составила 1332 нуклеотида. Анализ сходства с последовательностями, депонированными в GenBank, показал, что исследуемый штамм принадлежит к роду *Dietzia*. Наиболее близкими видами являются *D. maris* и *D. kunjamensis*. Было выявлено 22 штамма *D. maris* нуклеотидная идентичность с генами 16S рРНК которых составила 99.85–100.00% (MT632637, MK254648, MN134494, MG547917, MK318606, KU601225, OP218699, MW599789, KJ939458, OK299010, KF923451, KF740541, MZ292942, MZ149266, MW965720, MW624378, JF798365, GQ870425, NR_116685, NR_037025, NR_118596, MN134494, X79291).

Идентичность с геном 16S рРНК типового штамма *D. maris* DSM 43672—99.92%. Также высокий уровень сходства генов 16S рРНК (99.77—100%) показали шесть штаммов *D. kunjamentsis* (*D. kunjamentsis* WD821, *D. kunjamentsis* 313, *D. kunjamentsis* NC162, *D. kunjamentsis* D143, *D. kunjamentsis* ssp. *Schimae* DSM 45139, *D. kunjamentsis* DSM 44907). Идентичность с генами 16S рРНК типовых штаммов *D. kunjamentsis* DSM 44907—99.85%, *D. kunjamentsis* ssp. *schimae* DSM 45139—99.77%.

К настоящему времени последовательности геномов *D. kunjamentsis* получены в виде контигов (RAQB01, JAALDS01, JAALDR01, FXTG01) и скаффолдов (JAPWIF01, JASIRP01), расшифровка генома штамма *D. kunjamentsis* 313 полностью завершена (GCA_024125715). Референсным является геном штамма *D. kunjamentsis* ssp. *schimae* DSM 45139 (FXTG01). Геномы *D. maris* не расшифрованы полностью, 6 геномов представлены набором контигов: (JALXXM01, QNTT01, JAALDN01, JALXXI01, CANNAK01, CANNAO01), у двух геномов контиги упорядочены в скаффолды (LMTF01, JAPWIO01). Опубликованный геном типового штамма *D. maris* DSM 43672 по данным GenBank (от 05.09.2023 г.) контаминирован (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/GCF_001630765.1/). Ранее референсным считался геном штамма *D. maris* p3-SID1051 (JALXXI01). В 2023 году референсным был назначен геном штамма *D. maris* IEGM 44 (JAPWIO01), выделенный из загрязненных нефтью почв.

Было проведено секвенирование генома штамма MX2, который был депонирован в Genbank под номером доступа JAUNTB01. Геном представлен 111 контигами, его размер составил 3747717 п.о., содержание пар Г + Ц — 70.18%, число белок-кодирующих генов — 3562. Были выявлены полные нуклеотидные последовательности гена 16S рРНК, генов домашнего хозяйства (“housekeeping”) *gyrB* (β-субъединицы ДНК-гиразы), *rpoB* (β-субъединицы РНК-полимеразы), *recA* (рекомбиназы А), *ppk* (полифосфаткиназы), а также ген *alkB*

(алкан-монооксигеназа). Наличие гена *alkB*, кодирующего ключевой ферментом деградации н-алканов (van Beilen et al., 2007), может свидетельствовать о том, что штамм MX2 наряду с другими представителями рода *Dietzia* (Gharibzahedi et al., 2014) способен разлагать алифатические углеводороды. Нуклеотидная идентичность полных генов 16S rRNA (1523 п.о.) штамма MX2 и типовых штаммов *D. maris* DSM 43672 и *D. kunjamentsis* DSM 44907 одинакова и составила 99.93%. Идентичность с генами 16S rRNA штаммов *D. maris* IEGM 44 и *D. kunjamentsis* ssp. *schimae* DSM 45139 составила 100%. Существует вероятность того, что результаты MALDI-TOF-MS анализа могут быть ошибочны (Lorente-Leal et al., 2022) в связи с высоким сходством между видами и/или отсутствием спектров *D. kunjamentsis* в базе данных. Поскольку возможности идентификации на основе последовательности генов 16S rRNA у близкородственных видов бывают ограничены (Cohan, 2001), для уточнения филогенетического положения были использованы гены “домашнего хозяйства”, эволюционирующие сравнительно медленно, но быстрее, чем гены 16S рРНК. Наиболее высокой идентичностью обладали гены домашнего хозяйства штамма *D. maris* IEGM 44 (*gyrB* — 98.58%, *rpoB* — 99.77%, *recA* — 99.19%, *ppk* — 99.76%). Нуклеотидная идентичность с генами домашнего хозяйства *D. kunjamentsis* ssp. *schimae* DSM 45139, *D. kunjamentsis* DSM 44907 и *D. kunjamentsis* 313 была на 0.2—2.76% ниже. Идентичность с последовательностями генов домашнего хозяйства других видов *Dietzia* была ниже 92%. Кроме того, ген *alkB* штамма *D. maris* IEGM 44 обладал наибольшей идентичностью (99.19%) с геном, принадлежащим штамму MX2. Был проведен сравнительный анализ полногеномных последовательностей штамма MX2, *D. maris* IEGM 44, *D. maris* p3-SID1051, *D. kunjamentsis* ssp. *schimae* DSM 45139, *D. kunjamentsis* 313, основанный на расчете средней идентичности нуклеотидных последовательностей (ANI). Наиболее высокий показатель ANI (98.49 и 97.27%) был установлен для штаммов вида *D. maris* (табл. 3).

Таблица 3. Попарное сравнение значений ANI (в %) геномов штаммов MX2, *D. maris* IEGM 44, *D. maris* p3-SID1051, *D. kunjamentsis* DSM 44907, *D. kunjamentsis* ssp. *Schimae* DSM 45139, *D. kunjamentsis* 313

	<i>D. kunjamentsis</i> 313	<i>D. kunjamentsis</i> ssp. <i>Schimae</i> DSM 45139	<i>D. kunjamentsis</i> DSM 44907	<i>D. maris</i> IEGM 44	<i>D. maris</i> p3-SID1051	MX2
<i>D. kunjamentsis</i> 313	100.00	96.82	97.93	97.13	97.17	97.12
<i>D. kunjamentsis</i> ssp. <i>Schimae</i> DSM 45139	96.82	100.00	96.77	96.57	96.63	96.56
<i>D. kunjamentsis</i> DSM 44907	97.93	96.77	100.00	96.77	96.85	96.92
<i>D. maris</i> IEGM 44	97.13	96.57	96.77	100.00	97.20	98.49
<i>D. maris</i> p3-SID1051	97.17	96.63	96.85	97.20	100.00	97.27
MX2	97.12	96.56	96.92	98.49	97.27	100.00

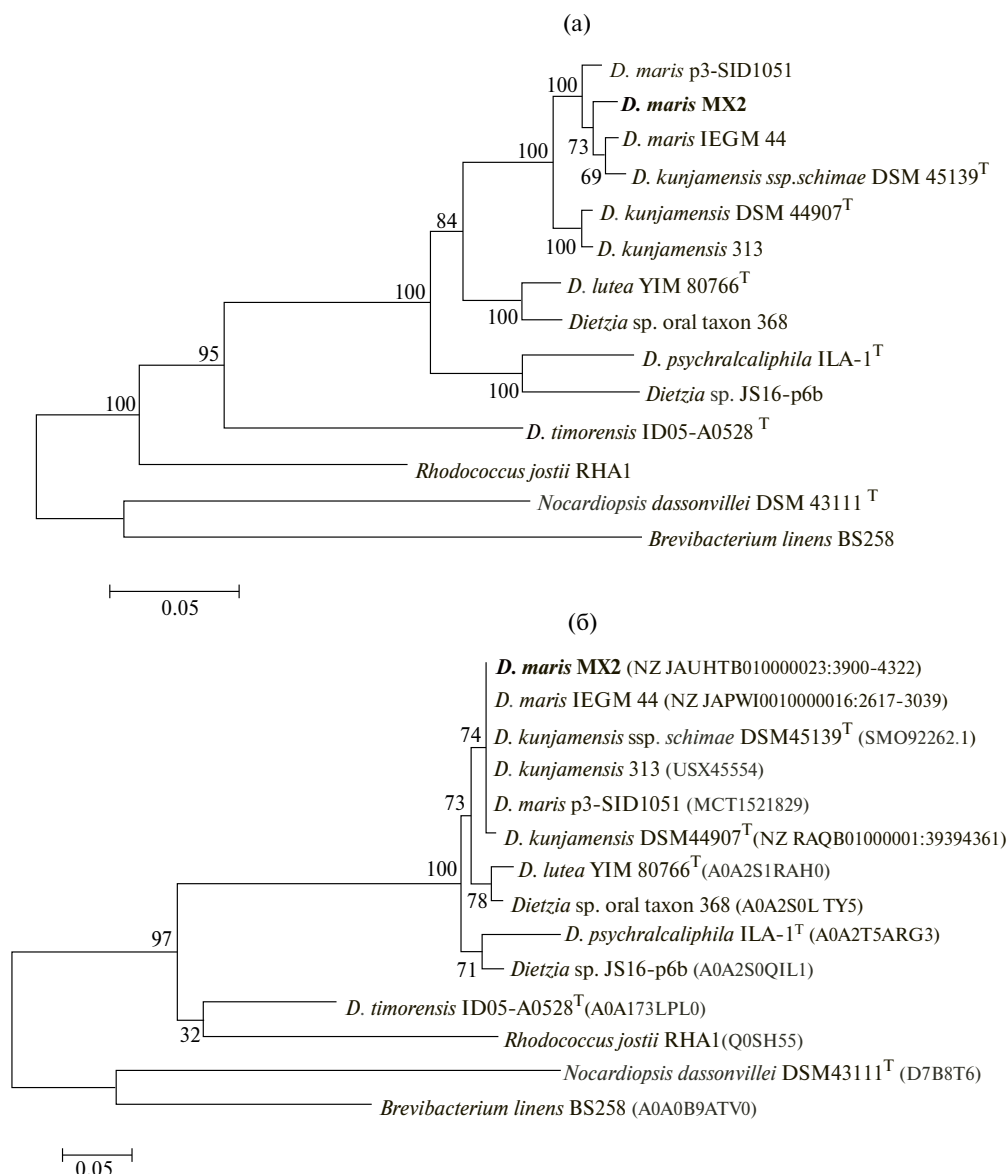


Рис. 5. Неукорененные филогенетические деревья, построенные методом максимального правдоподобия по результатам сравнительного анализа: (а) нуклеотидных последовательностей генов *gyrB* и (б) аминокислотных последовательностей L-эктоинсинтазы штаммов *D. maris* MX2, *D. maris* IEGM 44, *D. maris* p3-SID1051, *D. kunjamensis* ssp. *schimae* DSM 45139T, *D. kunjamensis* DSM 44907T, *D. kunjamensis* 313, *D. lutea* YIM 80766T, *D. psychrhalcaliphila* ILA-1T, *Dietzia* sp. oral taxon 368, *Dietzia* sp. JS16-p6b, *D. timorensis* ID05-A0528T, *Rhodococcus jostii* RHA1, *Nocardiopsis dassonvillei* DSM 43111T, *Brevibacterium linens* BS258. Цифрами указана статистическая значимость порядка ветвления (в %), определенная с помощью бутстреп-анализа 500 альтернативных деревьев. Масштабная метка — 0.05 замен на одну нуклеотидную позицию.

Таким образом, штамм MX2 был идентифицирован, как принадлежащий к виду *Dietzia maris*. Дерево, показывающее филогенетическое положение штамма *Dietzia maris* MX2, на основе анализа последовательностей гена *gyrB* представителей рода *Dietzia*, а также других актинобактерий (*Rhodococcus jostii* RHA1, *Nocardiopsis dassonvillei* DSM 43111, *Brevibacterium linens* BS258) представлено на рис. 5а.

Результаты исследования влияния различных концентраций NaCl на рост штамма MX2 согласуются с данными литературы (Koerner et al., 2009;

Пьянкова и соавт., 2022), свидетельствующими о способности *D. maris* к росту при концентрации NaCl в среде культивирования до 7%, что позволяет считать данные бактерии галотолерантными микроорганизмами. Присутствие штамма *D. maris* MX2 в образце рассола может быть связано как с выделением непосредственно из соляной толщи в процессе подземного растворения, так и с наличием данных бактерий в растворителе. Ранее было показано, что бактерии рода *Dietzia* отсутствуют в растворителе, но при этом в рассоле скважины

№ 31 они были выявлены (Пьянкова и соавт., 2022). Таким образом, вероятным источником *D. maris* MX2 является соляная толща. Отсутствие органической составляющей в отмытых фракциях (нерастворимые компоненты: хлопья и блестки) свидетельствует о том, что бактерии могут быть обнаружены только в растворимой части породы.

Стратегия выживания *D. maris* MX2 в гиперосмотических условиях. Род *Dietzia* был предложен Rainey в 1995 г. как моноспецифический таксон для микроорганизма, ранее классифицированного как *Rhodococcus maris* (Nesterenko et al., 1982; Rainey et al., 1995). На момент написания статьи род *Dietzia* включал 14 культивируемых достоверно охарактеризованных видов, входящих в семейство *Dietziaceae* и образующих отдельную кладу на филогенетическом дереве семейства *Corynebacteriaceae*. Представители *Dietzia* встречаются в широком спектре водных и наземных местообитаний. Они были выделены из щелочных подземных вод, соленых озер, почвы, нефтяных месторождений, образцов, взятых у пациентов с острыми инфекциями и с поверхности растений (Koegner et al., 2009). Разнообразие сред обитания, во многих из которых создаются стрессовые для бактериальной клетки условия, свидетельствует о наличии механизмов адаптации. Так, в клеточных стенках актинобактерий рода *Dietzia*, принадлежащего к надродовому таксону *Mycolata*, содержатся миколовые кислоты, играющие важную роль в сопротивляемости к обезвоживанию, химическим воздействиям и антибактериальным препаратам (Goodfellow, Maldonado, 2006).

Способность штамма MX2 к существованию в средах обитания с широким диапазоном концентраций солей, позволяет предположить, что данная актинобактерия для обеспечения осмотического гомеостаза использует вторую стратегию выживания в гиперосмотических условиях. Для представителей актинобактерий *Actinopolyspora halophila* и *Nocardiopsis* sp. известно, что доминирующими совместимыми веществами являются эктоин и бетаин, наименее значимы гидроксиэктоин и трегалоза (Gunde-Cimerman et al., 2018). Актинобактерии порядка *Micrococcales* (*Brevibacterium epidermidis*, *Kocuria varians*, *Nesterenkonia halobia*) и порядка *Streptomycetales* (*S. coelicolor*, *S. griseolus*) также накапливают эктоин, бетаин, гидроксиэктоин и трегалозу (Pastor et al., 2010). *Rhodococcus jostii* RHA1, принадлежащий, как и виды рода *Dietzia* к порядку *Corynebacteriales*, в условиях стресса индуцирует пути биосинтеза эктоина (LeBlanc et al., 2008). *R. jostii* PD630 продуцирует три осмолита — трегалозу, эктоин и гидроксиэктоин (Alvarez, 2004). Вероятно, *D. maris* MX2, как и другие галотолерантные актинобактерии, для адаптации к гиперосмотическим условиям накапливает подобные осмолиты.

Анализ полных последовательностей геномов представителей рода *Dietzia* (*D. lutea* YIM 80766, *D. psychrhalcaliphila* ILA-1, *D. timorensis* ID05-A0528, *D. kunjamensis* 313, *Dietzia* sp. JS16-p6b, *Dietzia* sp. oral taxon 368 W5195) с использованием баз данных KEGG pathway показал наличие в них метаболических путей биосинтеза и деградации эктоина. Эктоин синтезируется из L-аспартат-4-полуальдегида в цепи реакций, которые осуществляет диаминобутират-2-оксоглутарат транс-аминаза [EC:2.6.1.76], L-2,4-диамино-бутират ацетил-трансфераза [EC:2.3.1.178] и L-эктоин-синтаза [EC:4.2.1.108]. Данные ферменты у различных грамотрицательных и грамположительных бактерий кодируются эволюционно консервативным кластером генов, *ectABC* (Bursy et al., 2007). Субстрат для синтеза эктоина, L-аспартат-4-полуальдегид, образуется из аспартата при помощи аспартаткиназы [EC: 2.7.2.4] и аспартат-полуальдегид-дегидрогеназы [EC: 1.2.1.11]. Под воздействием эктоингидроксилазы (*EctD*) [EC:1.14.11.55] осуществляется гидроксилирование эктоина с образованием гидроксиэктоина. Для установления возможности использования эктоина в качестве инструмента второй стратегии борьбы с осмотическим стрессом, в геноме *D. maris* MX2 был произведен поиск генов, кодирующих ферменты метаболических путей синтеза эктоина. Выявленные последовательности идентичны гомологичным генам *D. maris* IEGM 44 на 97.68–99.53% и *D. maris* p3-SID1051 на 97.15–98.83%. Также высокой идентичностью обладают гены *D. kunjamensis* ssp. *schimae* DSM 45139 (96.30–99.06%) *D. kunjamensis* DSM 44907 (96.41–99.53%) и *D. kunjamensis* 313 (96.41–99.77%). Гены штаммов *D. maris* MX2 и *D. maris* IEGM 44, кодирующие L-эктоин-гидроксилазу, идентичны на 100%, гомологичные гены *D. maris* p3-SID1051, *D. kunjamensis* ssp. *schimae* DSM 45139 и *D. kunjamensis* 313 идентичны на 96.30–96.76%. Идентичность гомологичных генов представителей других видов рода *Dietzia* существенно ниже (74.71–94.10%). На филогенетическом дереве, построенном на основании выравнивания аминокислотных последовательностей L-эктоинсинтаз, *D. maris* MX2 располагается в общей клade с представителями *D. kunjamensis* и *D. maris*. Данная клada, в свою очередь, находится в клade, объединяющей другие виды рода *Dietzia* (рис. 56). Подобное расположение соответствует топологии филогенетического дерева, сформированного на основании последовательностей генов *gyrB* видов рода *Dietzia* и других представителей актинобактерий (рис. 5а). Это может свидетельствовать о том, что гены L-эктоинсинтазы рода *Dietzia* являются гомологами, возникшими от предкового гена в процессе видообразования.

Сопrotивляемость солевому стрессу с помощью эктоина осуществляется галотолерантными бактериями не только путем синтеза, но и за счет его поглощения из окружающей среды. Ранее было показано, что в геномах представителей рода *Dietzia*,

выделенных из водной среды, наиболее распространены гены, кодирующие АТФ-связывающие транспортные белки суперсемейства ABC (Fang et al., 2020). В геноме штамма *D. maris* MX2 обнаружены гены, для которых на основании гомологии транслированных аминокислотных последовательностей установлено, что они кодируют субъединицы ABC-транспортера эктоина/гидроксиэктоина (АТФ-связывающий белок EhuA, субстрат-связывающий белок EhuB, гомологичные пермеазы EhuC и EhuD). Таким образом, штамм *D. maris* MX2 способен как поглощать эктоин из внешней среды, так и синтезировать его *de novo*. Помимо генов ABC-транспортеров эктоина, в геноме *Dietzia* sp. MX2 были обнаружены и другие осмопротекторные транспортеры. Это ABC-транспортер глицерина и глицерин-3-фосфата (гены *ugpA*, *ugpB*, *ugpC*), ABC-транспортер L-пролина и глицин-бетаина (гены *proX* и *proP*), а также транспортер глицин-бетаина пермеаза OpuD.

Важную роль в защите бактерий в условиях водного и гиперосмотического стресса играет такое осмопротекторное соединение как трегалоза, углевод из группы невосстанавливающих дисахаридов. Наиболее распространенным является путь синтеза трегалозы из UDP-глюкозы и глюкозо-6-фосфата при участии трегалозо-6-фосфат синтазы и трегалозо-6-фосфат фосфатазы. Трегалозо-6-фосфат синтаза (OtsA, EC2.4.1.15) была выделена у актинобактерии *Rhodococcus opacus* (Tischler et al., 2013). Установлено, что в геномах *D. lutea* YIM 80766, *D. psychrhalcaliphila* ILA-1, *Dietzia* sp. oral taxon 368, *D. timorensis* ID05-A0528, присутствуют гены, транслированные аминокислотные последовательности которых на 65.73–66.67% идентичны трегалозо-6-фосфат синтазе *R. opacus*. В геноме *D. maris* MX2 также были обнаружены гены, кодирующие ферменты, ответственные за синтез трегалозы из UDP-глюкозы и глюкозо-6-фосфата. При этом наибольшей идентичностью с ними (99.38–100.00%) обладали гены *D. maris* IEGM 44. Кроме того, с использованием баз данных KEGG pathway у представителей рода *Dietzia* обнаружен другой метаболический путь синтеза трегалозы, в котором происходит превращение олиго/полимальтодекстринов/гликогена в трегалозу в двустадийной реакции с помощью мальтоолигозилтрегалозо синтазы (TreY, EC:5.4.99.15) и мальтоолигозилтрегалозо трегалогидролазы (TreZ, EC:3.2.1.141). Установлено, что последовательности, кодирующие оба фермента, присутствуют в геноме *D. maris* MX2 и показывают высокое сходство с гомологичными последовательностями *D. maris* IEGM 44 (98.69% (*treY*) и 97.92% (*treZ*)) и *D. maris* p3-SID1051 (98.90% (*treY*) и 93.24% (*treZ*)).

В результате анализа генома штамма *D. maris* MX2 на наличие систем транспорта трегалозы, были обнаружены последовательности генов,

кодирующих белки-переносчики трегалозы — пермеазы SugA и SugB. Гомологичные пермеазы являются компонентами транспортера трегалозы у актинобактерии *Mycobacterium tuberculosis*. Поскольку у млекопитающих трегалоза отсутствует, данный транспортер необходим *M. tuberculosis* для ретроградного транспорта трегалозы как побочного продукта биосинтеза миколовых кислот клеточной оболочки (Kalscheuer et al., 2010). Соответственно, пермеазы SugA и SugB штамма *D. maris* MX2 с большой вероятностью осуществляют не только транспорт трегалозы из окружающей среды, но и обеспечивают рециркуляцию трегалозы, освобождаясь при формировании клеточной стенки.

Таким образом, из Якшинского месторождения минеральных солей был выделен новый штамм *D. maris* MX2, который является галотолерантным и адаптируется к высоким концентрациям солей в среде обитания посредством второй стратегии обеспечения осмотического баланса путем регулирования процессов синтеза и/или транспорта таких осмопротекторов как эктоин, гидроксиэктоин, трегалоза, глицерин, глицерин-3-фосфат, L-пролин и глицин-бетаин.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают признательность за возможность использования ресурсов, предоставляемых Междисциплинарным центром коллективного пользования Казанского (Приволжского) федерального университета.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства КФУ (Приоритет 2030) и поддержана грантом РНФ № 22–24–00036.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Вишняков А. К., Вафина М. С., Игнатович О. О. Строение и условия формирования калийных солей западной части Верхнепечорского соленосного бассейна // Отечественная геология. 2018. № 2. С. 70–78.

- Vishnyakov A. K., Vafina M. S., Ignatovich O. O. Structure and formation conditions of potash salts, western part of verkhnepechorsky salt-bearing basin // *Otechestvennaya geologiya* (National Geology). 2018. № 2. P. 70–78. (In Russian).
- Корсакова Е. С., Ананьина Л. Н., Назаров А. В., Бачурин Б. А., Плотникова Е. Г. Разнообразие бактерий семейства *Halomonadaceae* района разработок Верхнекамского месторождения солей // *Микробиология*. 2013. Т. 82. С. 247–250.
- Korsakova E. S., Anan'ina L. N., Nazarov A. V., Bachurin B. A., Plotnikova E. G. Diversity of bacteria of the family *Halomonadaceae* at the mining area of the Verkhnekausk salt deposit // *Microbiology* (Moscow). 2013. V. 82. P. 249–252.
- Литовский В. В. Мировые минеральные ресурсы: калийные соли Прикамья и фундаментальные проблемы геобиогенеза. Екатеринбург: Изд-во Урал. гос. ун-та путей сообщения, 2008. 162 с.
- Litovskiy V. V. World mineral resources: potassium salts of the Prikamye and fundamental problems of geobiogenesis. Yekaterinburg: Publishing house of the Ural State University of Railway Transport, 2008. 162 p. (In Russian).
- Плотникова Е. Г., Алтынцева О. В., Демаков В. А., Коселева И. А., Пунтус И. Ф., Филонов А. Е., Гавриш Е. Ю., Боронин А. М. Бактериальные деструкторы полициклических ароматических углеводородов, выделенных из засоленных почв и донных отложений в районах добычи соли // *Микробиология*. 2001. Т. 70. С. 61–69.
- Plotnikova E. G., Altyntseva O. V., Demakov V. A., Kosheleva I. A., Puntus I. F., Filonov A. E., Gavriush E. Yu., Boronin A. M. Bacterial degraders of poly cyclic aromatic hydrocarbons isolated from salt-contaminated soils and bottom sediments in salt mining areas // *Microbiology* (Moscow). 2001. V. 70. P. 51–58.
- Пьянкова А. А., Плотникова Е. Г., Шанина С. Н. Бактериальное сообщество рассолов, извлекаемых при подземном растворении калийно-магниевых солей Якшинского месторождения (Республика Коми) // *Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки*. 2022. Т. 164. кн. 3. С. 457–474.
- Pyanikova A. A., Plotnikova E. G., Shanina S. N. Bacterial community of the brines extracted during the underground dissolution of potassium-magnesium salts of the Yakshinskoe deposit (Komi Republic, Russia) // *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*. 2022. V. 164. № 3. P. 457–474. (In Russian)
- Шанина С. Н., Галамай А. Р., Игнатович О. О., Бурдельная Н. С., Валяева О. В. Органическое вещество соляной толщи южной части Якшинского месторождения калийно-магниевых солей // *Геохимия*. 2018. Т. 56. № 7. С. 693–708.
- Shanina S. N., Burdelnaya N. S., Valyaeva O. V., Galamay A. R., Ignatovich O. O. Organic matter of the salt sequence in the southern part of the Yakshinskoe potassium-magnesium salt deposit // *Geochem. Int.* 2018. V. 56. С. 719–734.
- Ястребова О. В., Плотникова Е. Г. Филогенетическое разнообразие бактерий семейства *Micrococcaceae*, выделенных из биотопов с различным антропогенным воздействием // *Вестн. Пермского ун-та. Сер. Биология*. 2020. Вып. 4. С. 321–333.
- Yastrebova O. V., Plotnikova E. G. Phylogenetic diversity of bacteria of the *Micrococcaceae* family, isolated from biotopes with different anthropogenic impacts // *Bulletin of the Perm University. Series Biology*. 2020. Iss. 4. P. 321–333. (In Russian).
- Alvarez H. M., Silva R. A., Cesari A. C., Zamit A. L., Peressutti S. R., Reichelt R., Keller U., Malkus U., Rasch C., Maskow T., Mayer F., Steinbüchel A. Physiological and morphological responses of the soil bacterium *Rhodococcus opacus* strain PD630 to water stress // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2004. V. 50. P. 75–86.
- Bursy J., Pierik A. J., Pica N., Bremer E. Osmotically induced synthesis of the compatible solute hydroxyectoine is mediated by an evolutionarily conserved ectoine hydroxylase // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. P. 31147–31155.
- Cohan F. M. Bacterial species and speciation // *Syst. Biol.* 2001. V. 50. P. 513–524.
- Fang H., Xu J. B., Nie Y., Wu X. L. Pan-genomic analysis reveals that the evolution of *Dietzia* species depends on their living habitats // *Environ. Microbiol.* 2021. V. 23. P. 861–877.
- Gharibzahedi S. M. T., Razavi S. H., Mousavi M. Potential applications and emerging trends of species of the genus *Dietzia*: a review // *Ann. Microbiol.* 2014. V. 64. P. 421–429.
- Goodfellow M., Maldonado L. A. The Families *Dietziaceae*, *Gordoniaceae*, *Nocardiaceae* and *Tsukamurellaceae* // *The Prokaryotes* / Eds. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer K. H., Stackebrandt E. N.Y.: Springer, 2006. P. 843–889.
- Gunde-Cimerman N., Plemenitaš A., Oren A. Strategies of adaptation of microorganisms of the three domains of life to high salt concentrations // *FEMS Microbiol. Rev.* 2018. V. 42. P. 353–375.
- Hagemann M. Coping with high and variable salinity: molecular aspects of compatible solute accumulation // *The physiology of microalgae. Developments in applied phycology* / Eds. Borowitzka M., Beardall J., Raven J. Cham: Springer, 2016. V. 6. P. 359–372.
- Kalscheuer R., Weinrick B., Veeraraghavan U., Besra G. S., Jacobs W. R. Jr. Trehalose-recycling ABC transporter LpqY-SugA-SugB-SugC is essential for virulence of *Mycobacterium tuberculosis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. P. 21761–21766.
- Kanehisa M., Goto S. KEGG: Kyoto encyclopedia of genes and genomes // *Nucl. Acids Res.* 2000. V. 28. P. 27–30.
- LeBlanc J. C., Gonçalves E. R., Mohn W. W. Global response to desiccation stress in the soil actinomycete *Rhodococcus jostii* RHA1 // *Appl. Environ. Microbiol.* 2008. V. 74. P. 2627–2636.
- Lorente-Leal V., Liandris E. Bezos J., Pérez-Sancho M., Romero B., de Juan L. MALDI-TOF mass spectrometry as a rapid screening alternative for non-tuberculous mycobacterial species identification in the veterinary laboratory // *Front. Vet. Sci.* 2022. V. 9. P. 827702.
- Nesterenko O. A., Nogina T. M., Kasumova S. A., Kvasnikov E. I., Batrakov S. G. *Rhodococcus luteus* nom. nov. and *Rhodococcus maris* nom. nov. // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1982. V. 32. P. 1–14.
- Oren A. Life in Hypersaline Environments // *Their world: A diversity of microbial environments. Advances in Environmental Microbiology* / Eds. Hurst C. Cham: Springer, 2016. V. 1. P. 301–339.
- Pastor J. M., Salvador M., Argandoña M., Bernal V., Reina-Bueno M., Csonka L. N., Iborra J. L., Vargas C., Nieto J. J., Cánovas M. Ectoines in cell stress protection: uses and biotechnological production // *Biotechnol. Adv.* 2010. V. 8. P. 782.

- Rainey S., Klatte S., Kroppenstedt R. M. *Dietzia*, a newgenus including *Dietzia maris* comb. nov., formerly *Rhodococcus maris* // Int. J. Syst. Bacteriol. 1995. V. 45. P. 32–36.
- Rodriguez-R L.M., Konstantinidis K. T. The enveomics collection: a toolbox for specialized analyses of microbial genomes and metagenomes // PeerJ Preprints. 2016. V. 4. e1900v1.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Tischler D., Niescher S., Kaschabek S. R., Schlömann M. Trehalose phosphate synthases OtsA1 and OtsA2 of *Rhodococcus opacus* 1CP // FEMS Microbiol. Lett. 2013. V. 342. P. 113–122.
- van Beilen J. B., Funhoff E. G. Alkane hydroxylases involved in microbial alkane degradation // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2007. V. 74. P. 13–21.
- Ventosa A., Nieto J. J., Oren A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1998. V. 62. P. 504–544.
- Waditee-Sirisattha R., Kageyama H., Takabe T. Halophilic microorganism resources and their applications in industrial and environmental biotechnology // AIMS Microbiol. 2016. V. 2. P. 42–54.

Isolation, Identification and Survival Strategy of *Dietzia maris* MX2 Halotolerant Strain from the Yakshinskoe Mineral Salts Deposit

M. A. Kharitonova^{1, *}, F. G. Kupriyanova-Ashina¹, T. R. Shakirov², M. S. Vafina², O. N. Ilinskaya¹

¹Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, 420008, Russia

²JSC “Central Research Institute of Geology of Non-metallic Mineral Resources”, Kazan, 420097, Russia

*e-mail: Maya_Kharitonova@mail.ru

Received July 13, 2023; revised September 6, 2023; accepted September 6, 2023

Abstract—Halophilic and halotolerant microorganisms have a high biotechnological potential. They are producers of biologically active substances, stress-protective agents, hydrolytic enzymes, and are used for environmental bioremediation. At the same time, the characterization of novel halotolerant bacteria and the disclosure of their salt tolerance strategy are topical fundamental problems. In the present work, a new strain MX2 was isolated from the salt well brine of the Yakshinskoe potassium-magnesium salt deposit. The isolate is represented by aerobic gram-positive non-motile bacteria that do not produce spores. The cell morphology varies from cocci to short rods that are capable of producing V-shaped forms. Colonies on the surface of agar nutrient medium were circular with an entire edge and raised center, glistening and orange. Bacteria of strain MX2 are halotolerant microorganisms capable of growing at NaCl concentrations up to 9%. Strain MX2 was sequenced. Its size was estimated at 3747717 b.p., the number of protein-coding genes — 3562. Strain MX2 was identified as belonging to the species *Dietzia maris* based on analysis of 16S rRNA, *gyrB*, *rpoB*, *recA*, *ppk* gene sequences and using time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS). *D. maris* MX2 has complete metabolic pathways for the synthesis of ectoine, hydroxyectoine, and trehalose, as well as transport systems for ectoine, hydroxyectoine, trehalose, glycerol, glycerol-3-phosphate, L-proline, and glycine-betaine. Thus, to ensure the osmotic balance, *D. maris* MX2 uses the strategy of accumulating compatible organic solutes.

Keywords: *Dietzia*, halotolerant, strategy of adaptation, ectoine, trehalose