

БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННАЯ ЭКОЛОГИЯ

DOI: 10.15593/2224-9400/2021.1.01

УДК 579.25

**И.А. Дегтярева^{1,2}, Э.В. Бабынин^{1,3},
Т.Ю. Мотина¹, А.А. Салаватуллина²**

¹Татарский научно-исследовательский институт агрохимии
и почвоведения – обособленное структурное подразделение
ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

²Казанский национальный исследовательский
технологический университет, Казань, Россия

³Казанский (Приволжский) федеральный университет,
Казань, Россия

ИЗОЛЯЦИЯ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ УГЛЕВОДОРОДОКИСЛЯЮЩЕГО ШТАММА *STAPHYLOCOCCUS WARNERI*

*Из нефтезагрязненной черноземной почвы Республики Татарстан выделен штамм *Staphylococcus warneri* S1, который предложен в составе консорциума микроорганизмов-деструкторов углеводов для биорекультивации нарушенных земель. Штамм способен утилизировать широкий спектр углеводов (вакуумная газойль, гексан, дизельное топливо, мазут, толуол, фенол) до 10,0 % и активно развиваться в среде с добавлением NaCl – до 6,0 %. Секвенирование генома проведено на платформе MiSeq Illumina. Установлено среднее содержание GC-пар в геноме – 32,7 %. При аннотировании генома с использованием сервера RAST и SEED viewer показано, что он содержит 2535 кодирующих белок последовательностей. Большинство аннотированных генов *S. warneri* S1 определяет синтез аминокислот и их производных (255), углеводный обмен (195), белковый метаболизм (167), кофакторы, витамины, простетические группы и пигментные образования (87), нуклеозиды и нуклеотиды (78), метаболизм жирных кислот, липидов и изопреноидов (55) и метаболизм ДНК (68). Аннотированы несколько генов, участвующих в путях биоразложения углеводов, что подтвердило наличие у штамма углеводородокисляющих свойств. Выявлено два гена неохарактеризованных белков *uddN* и *useB*, имеющих сходство с алканалмонооксигеназами, которые могут принимать участие в биодegrадации алканов. Исследования деградации полиароматических углеводов (ПАУ) автохтонными микроорганизмами важно для оценки их экологического воздействия. При анализе полной последовательности генома *S. warneri* S1 выявлено несколько генов, кодирующих репрезентативные функциональные ферменты, имеющие отношение к деградации ПАУ, такие как гены, кодирующие ферменты катехол-2,3-диоксигеназу, фумарилацетоаце-*

тат-гидролазу и салицилат-1-монооксигеназу. Полногеномное секвенирование и аннотирование генома штамма *S. warneri* S1 подтвердило наличие у него углеводородокисляющих свойств. В результате исследования антибиотикорезистентности установлено, что штамм-биодеструктор действительно обладает устойчивостью к трем из шести исследованных антибиотиков, а именно к ампициллину, азитромицину, налидиксовой кислоте. Полученная информация позволяет лучше понять механизм осуществления деградации углеводородов и роль штамма в бактериальном консорциуме.

Ключевые слова: почва, нефть, углеводородокисляющие микроорганизмы, биорекультивация, *Staphylococcus*, геном, секвенирование, аннотирование.

**I.A. Degtyareva^{1,2}, E.V. Babynin^{1,3},
T.Y. Motina¹, A.A. Salavatullina²**

¹Tatar Research Institute of Agrochemistry and Soil Science,
FRC Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences,
Kazan, Russian Federation

²Kazan National Research Technological University,
Kazan, Russian Federation

³Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

ISOLATION, IDENTIFICATION AND GENOME-WIDE ANALYSIS OF THE HYDROCARBON-OXIDIZING STAPHYLOCOCCUS WARNERI STRAIN

A strain of Staphylococcus warneri S1 was isolated from the oil-contaminated black earth soil of the Republic of Tatarstan, which was proposed as part of a consortium of hydrocarbon destructor microorganisms for biorecultivation of disturbed lands. The strain is able to utilize a wide range of hydrocarbons (vacuum gas oil, hexane, diesel fuel, fuel oil, toluene, phenol) up to 10,0 % and actively develop in an environment with the addition of NaCl – up to 6,0 %. Genome sequencing was performed on the MiSeq Illumina platform. The average content of GC pairs in the genome was found to be 32,7 %. When annotating the genome using the RAST server and SEED viewer, it is shown to contain 2535 protein-coding sequences. Most of the annotated genes of S. warneri S1 determines the synthesis of amino acids and their derivatives (255), carbohydrate metabolism (195), protein metabolism (167), cofactors, vitamins, prosthetic groups and pigment formations (87), nucleosides and nucleotides (78), metabolism of fatty acids, lipids and isoprenoids (55) and DNA metabolism (68). several genes involved in the pathways of hydrocarbon biodegradation were Annotated, which confirmed the presence of hydrocarbon-oxidizing properties in the strain. Two genes of the uncharacterized proteins yddN and yceB, which are similar to alkanal monooxygenases, have been identified and can participate in the biodegradation of alkanes. Studies of degradation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) by autochthonous microorganisms are important for assessing their environmental impact. Analysis of the complete genome sequence of S. warneri S1 revealed several genes encoding representative functional enzymes related to PAH degradation, such as genes encoding the enzymes catechol-2,3-dioxygenase, fumarylacetoacetate hydrolase, and salicylate-1-monooxygenase.

Genome-wide sequencing and annotation of the genome of the S. warneri S1 strain confirm the presence of hydrocarbon-oxidizing properties. The results of a study of antibiotic resistance showed that the biodestructor strain is indeed resistant to three out of six studied antibiotics, namely ampicillin, azithromycin, and nalidixic acid. The information obtained allows us to better understand the mechanism of the degradation of hydrocarbons and the role of the strain in the bacterial consortium.

Keywords: soil, oil, hydrocarbon-oxidizing microorganisms, biorecultivation, *Staphylococcus*, genome, sequencing, annotation.

Биоремедиация с использованием эффективной автохтонной микрофлоры представляет собой перспективный подход к очистке природных сред от загрязнений нефтью и ее производными [1–5] в связи с тем, что нефтяные углеводороды являются одними из наиболее опасных загрязнителей [6, 7]. С целью обеспечения эффективной очистки от нефти и нефтепродуктов в качестве деструктора углеводородов нами предложен штамм микроорганизмов *Staphylococcus warneri* S1, выделенный в составе консорциума микроорганизмов-деструкторов из черноземной почвы на территории Ромашкинского месторождения нефти Татарстана.

Штамм *Staphylococcus warneri* – грамположительная комменсальная бактерия, неоднократно обнаруживаемая среди углеводородоокисляющих микроорганизмов, выделенных из нефтезагрязненных почв [8, 9]. Однако роль этого вида бактерий в деградации углеводородов изучена недостаточно. Установлено, что некоторые вторичные метаболиты, продуцируемые отдельными видами *Staphylococcus*, выделенными из естественной среды, имеют биотехнологическое и биомедицинское значение [10, 11], в том числе участвуют в производстве биосурфактантов [12].

Благодаря возросшей доступности технологий секвенирования следующего поколения (NGS) значительно выросло число видов, прошедших процедуру полногеномного секвенирования (WGS). WGS предоставляет важную информацию о функциональности бактерий (например, о метаболизме углеводородов) на геномном уровне, что ранее было невозможно.

Цель работы – полногеномное секвенирование и аннотирование генома штамма *Staphylococcus warneri* S1.

Экспериментальная часть. Экспериментальные исследования состояли из нескольких этапов. Вначале проводили количественный анализ почв Татарстана, загрязненных сернистой и девонской нефтями, на присутствие углеводородоокисляющих микроорганизмов. Затем осуществляли выделение и отбор эффективных штаммов по углеводородоокисляющей активности (до 85 %) и способности к деструкции различных алифатических и ароматических углеводородов. Потом определяли

совместимость штаммов методом штрихов и блоков, их идентификацию молекулярно-биологическими методами, депонирование в ведомственных коллекциях Российской Федерации [13–16].

Микроорганизмы, выявленные при посеве на плотные питательные среды, прошли последующую видовую идентификацию методом масс-спектрометрического анализа, который осуществляли с помощью времяпролетного MALDI масс-спектрометра Microflex (Bruker Daltonik GmbH, Германия) с использованием программы Flex Control.

Секвенирование выполняли на базе Междисциплинарного центра коллективного пользования Казанского федерального университета. Изолят выращивали в течение 24 ч при 37 °С на агаре с бульоном Лурья (LB) и выделяли геномную ДНК с использованием ZymoBIOMICS DNA Miniprep kit (ZymoResearch, США) с предварительной обработкой лизоцимом. Фрагменты геномной ДНК были получены обработкой ультразвуком с помощью прибора Covaris S220 в соответствии с рекомендациями производителя (Covaris, США). Из полученных фрагментов была создана ДНК-библиотека с использованием наборов NEBNext Ultra II (NEB, США) согласно инструкциям производителя. Оценку качества проводили на чипах прибора 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, США). Полученные библиотеки секвенировали на платформе MiSeq Illumina (Illumina, США) с использованием набора реагентов для секвенирования MiSeq® Reagent Kit v3.

Для определения антибиотикочувствительности суточную культуру тестируемого штамма наносили на поверхность среды с антибиотиком. Концентрацию антибиотиков подбирали, исходя из уже известных концентраций, которые выдерживают бактериальные штаммы, несущие плазмиды с маркерами устойчивости. Через сутки фиксировали рост на поверхности агара. Устойчивым считали штамм, который показывал сплошной рост. Чувствительный штамм определяли по отсутствию сплошного роста. Использовали антибиотики ампициллин (100 мкг/мл), азитромицин (130 мкг/мл), канамицин (100 мкг/мл), налидиксовая кислота (100 мкг/мл), рифампицин (100 мкг/мл), хлорамфеникол (170 мкг/мл).

Цифровые показатели анализировали по стандартным программам вариационной статистики согласно пакету программ Microsoft Office Excel-2010 с определением критерия достоверности.

Результаты исследований. Изучение автохтонной углеводород-окисляющей микрофлоры проводилось в несколько этапов: выделение, отбор, комплексное изучение свойств и т.д. Исследования показали, что штамм *Staphylococcus warneri* способен утилизировать широкий

спектр углеводов (вакуумная газойль, гексан, дизельное топливо, мазут, толуол, фенол) до 10,0 % и активно развиваться в среде с добавлением NaCl – до 6,0 %. Штамм идентифицировали молекулярно-биологическими методами и депонировали в Национальном биоресурсном центре «Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов» (БРЦ ВКПМ) НИЦ «Курчатовский институт» – ГосНИИгенетика как *Staphylococcus warneri* S1 под номером В-13521.

Секвенирование генома штамма *S. warneri* S1, выделенного в составе консорциума микроорганизмов-деструкторов углеводов, которое проведено на платформе MiSeq Illumina. Среднее содержание GC-пар в геноме составляет 32,7 %. Аннотирование генома выполнено с использованием сервера RAST. SEED viewer использовали для отнесения предсказанных генов к функциональным категориям. Показано, что геном *S. warneri* S1 содержит 2535 кодирующих белок последовательностей. Большинство аннотированных генов определяет синтез аминокислот и их производных (255), углеводный обмен (195), белковый метаболизм (167), кофакторы, витамины, простетические группы и пигментные образования (87), нуклеозиды и нуклеотиды (78), метаболизм жирных кислот, липидов и изопреноидов (55) и метаболизм ДНК (68).

В геноме штамма *S. warneri* S1 аннотированы несколько генов, участвующих в путях биоразложения углеводов. Это подтвердило наличие у штамма углеводородокисляющих свойств. Выявлено два гена неохарактеризованных белков yddN и useB, имеющих сходство с алканал-монооксигеназами, которые, вероятно, принимают участие в биодеградациии алканов. Исследование бактерий, разлагающих полиароматические углеводороды (ПАУ), открывают большие биотехнологические перспективы для обеззараживания загрязняющих веществ. В связи с этим понимание деградации ПАУ автохтонными микроорганизмами важно для оценки их экологического воздействия. При анализе полной последовательности генома организмов *S. warneri* S1 выявлено несколько генов, кодирующих репрезентативные функциональные ферменты, имеющие отношение к деградации ПАУ, такие как гены, кодирующие ферменты катехол-2,3-диоксигеназу, фумарилацетатоацетат-гидролазу и салицилат-1-монооксигеназу.

Результаты исследования антибиотикорезистентности у *Staphylococcus warneri* S1 показывают, что штамм-биодеструктор действительно обладает устойчивостью к трем из шести исследованных антибиотиков, а именно к ампициллину, азитромицину, налидиксовой кислоте.

Определение антибиотиков, к которым этот микроорганизм обладает чувствительностью, позволит в дальнейшем контролировать распространение и численность этого штамма в бактериальном консорциуме.

Заключение. Полногеномное секвенирование и аннотирование генома штамма *Staphylococcus warneri* S1 подтвердило наличие у него углеводородокисляющих свойств. Полученная информация позволит лучше понять механизм, с помощью которого *S. warneri* S1 осуществляет деградацию углеводородов, и его роль в бактериальном консорциуме. Исследуемый автохтонный штамм-деструктор углеводородов является перспективными для процесса биоремедиации почвы и может быть использован в составе биопрепарата для очистки нефтезагрязненных почв.

Список литературы

1. Игнатъев Ю.А., Зайнулгабидинов Э.Р., Петров А.М. Изменение углеводородного состава нефтезагрязненной дерново-подзолистой почвы в стандартизированных условиях инкубации // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17, № 15. – С. 256–260.
2. Исследование эффективности и экологической безопасности некоторых современных методов рекультивации нефтезагрязненных почв / И.А. Шайдуллина, Н.А. Антонов, Д.И. Сибгатова, А.Х. Япбаров, И.А. Дегтярева, В.З. Латыпова, Э.Ш. Гадиева // Георесурсы. – 2015. – Т. 2, № 4. – С. 44–47.
3. Определение деструктивного потенциала штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов по отношению к углеводородам нефти / А.Ж. Аюпова, Г.Ж. Нагметова, А.С. Сарсенова, А.А. Курманбаев // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2015. – № 10 (1). – С. 34–36.
4. Биодegradация нефти консорциумом штаммов-нефтедеструкторов в лабораторных модельных системах / А.А. Ветрова, В.А. Забелин, А.А. Иванова, Л.А. Адаменко, Я.А. Делеган, К.В. Петриков // Юг России: экология, развитие. – 2018. – № 1. – С. 184–198.
5. Rosenberg E. Hydrocarbon-oxidizing bacteria // The prokaryotes – Prokaryotic physiology and biochemistry. – New York: Springer, 2013. – P. 201–214.
6. Кузнецова О.В., Смирнова Т.С. Влияние нефтегазовой промышленности на состояние окружающей среды и здоровье человека // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2014. – № 9. – С. 39–43.
7. Галлямова Д.Х., Гильманова Р.И. Нефтегазовый апстрим сектор экономики России (часть 1): аналитика рынка геологоразведочных работ // Казанский экономический вестник. – 2017. – № 4 (30). – С. 14–21.
8. Isolation and characterization of different bacterial strains for bioremediation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons / A.G. M'rassi, F. Bensalah, J. Gury, R. Duran // Environmental Science and Pollution Research. – 2015. – Vol. 22, № 20. – P. 15332–15346.

9. Bhardwaj B., Bhatnagar U.B., Conaway D.G. An Unusual Presentation of Native Valve Endocarditis Caused by *Staphylococcus warneri* // Reviews in Cardiovascular Medicine. – 2016. – Vol. 17, № 3–4. – P. 140–143.

10. Functional and structural characterization of Sp1 protease from *Staphylococcus aureus* / G.M. Popowicz, G. Dubin, J. Stec-Niemczyk, A. Czarny, A.D. Dubin, J. Potempa [et al.] // Journal of Molecular Biology. – 2006. – Vol. 358, № 1. – P. 270–279.

11. Алексеева А.Е., Бруснигина Н.Ф. Возможности и перспективы применения методов массивного параллельного секвенирования в диагностике и эпидемиологическом надзоре за инфекционными заболеваниями // Медиаль. – 2014. – Т. 2. – С. 6–28.

12. Characterization of a novel biosurfactant produced by *Staphylococcus sp.* strain 1E with potential application on hydrocarbon bioremediation / K. Eddouaouda, S. Mnif, A. Badis, S.B. Younes, S. Cherif, S. Ferhat [et al.] // Journal of Basic Microbiology. – 2012. – Vol. 52, № 4. – P. 408–418.

13. Колешко О.И. Экология микроорганизмов почвы: лабораторный практикум. – Минск: Высшая школа, 1981. – 176 с.

14. Методы почвенной микробиологии и биохимии: учеб. пособие / под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.

15. Зенова Г.М., Степанов А.Л., Лихачева Н.А. Практикум по микробиологии почв. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 2002. – 120 с.

16. Полногеномное секвенирование штамма *Staphylococcus warneri*, изолированного из загрязненной нефтью почвы / И.А. Дегтярева, Э.В. Бабынин, Т.Ю. Мотина, М.И. Султанов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2020. – Т. 10, № 1. – С. 48–55.

References

1. Ignatev Yu.A., Zaynulgabidinov E.R., Petrov A.M. Izmenenie uglevodnorodnogo sostava neftezagryaznennoy dernovo-podzolistoy pochvy v standartizirovannykh usloviyakh inkubatsii [Changes in the hydrocarbon composition of oil-contaminated sod-podzolic soil under standardized incubation conditions]. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2014, vol. 17, no 15, pp. 256–260.

2. Shaydullina I.A., Antonov N.A., Sibgatova D.I., Yapparov A.Kh., Degtyareva I.A., Latypova V.Z., Gadieva E.Sh. Issledovanie effektivnosti i ekologicheskoy bezopasnosti nekotorykh sovremennykh metodov rekultivatsii neftezagryaznennykh pochv [Research on the effectiveness and environmental safety of some modern methods of reclamation of oil-contaminated soils]. *Georesursy*, 2015, vol. 2, no 4, pp. 44–47.

3. Ayupova A.Zh., Nagmetova G.Zh., Sarsenova A.S., Kurmanbaev A.A. Opredelenie destruktivnogo potentsiala shtammov nefteokislyayushchikh mikroorganizmov po otnosheniyu k uglevodorodam nefiti [Determination of the destructive potential of strains of oil-oxidizing microorganisms in relation to oil hydrocarbons]. *Aktualnye problemy gumanitarnykh i estestvennykh nauk*, 2015, no 10 (1), pp. 34–36.

4. Vetrova A.A., Zabelin V.A., Ivanova A.A., Adamenko L.A., Delegan Ya.A., Petrikov K.V. Biodegradatsiya nefli konsortsiyom shtammov-neftedestruktorov v laboratornykh modelnykh sistemakh [Biodegradation of oil by a consortium of oil-destroying strains in laboratory model systems]. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie*, 2018, no 1, pp. 184–198.

5. Rosenberg E. Hydrocarbon-oxidizing bacteria. In *The prokaryotes – Prokaryotic physiology and biochemistry*. New York: Springer, 2013, pp. 201–214.

6. Kuznetsova O.V., Smirnova T.S. Vliyaniye neftegazovoy promyshlennosti na sostoyaniye okruzhayushchey sredy i zdorove cheloveka [Impact of the oil and gas industry on the environment and human health]. *Zashchita okruzhayushchey sredy v neftegazovom komplekse*, 2014, no 9, pp. 39–43.

7. Gallyamova D.Kh., Gilmanova R.I. Neftegazovyy apstrim sektor ekonomiki Rossii (chast 1): analitika rynka geologorazvedochnykh rabot [Upstream oil and gas sector of the Russian economy (part 1): analysis of the exploration market]. *Kazanskiy ekonomicheskyy vestnik*, 2017, no 4 (30), pp. 14–21.

8. M'rassi A.G., Bensalah F., Gury J., Duran R. Isolation and characterization of different bacterial strains for bioremediation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015, vol. 22, no 20, pp. 15332–15346.

9. Bhardwaj B., Bhatnagar U.B., Conaway D.G. An Unusual Presentation of Native Valve Endocarditis Caused by *Staphylococcus warneri*. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, 2016, vol. 17, no. 3–4, pp. 140–143.

10. Popowicz G.M., Dubin G., Stec-Niemczyk J., Czarny A., Dubin A.D., Potempa J., et al. Functional and structural characterization of Sp1 protease from *Staphylococcus aureus*. *Journal of Molecular Biology*, 2006, vol. 358, no. 1, pp. 270–279.

11. Alekseeva A.E., Brusnigina N.F. Vozmozhnosti i perspektivy primeneniya metodov massivnogo parallelnogo sekvenirovaniya v diagnostike i epidemiologicheskoy nadzore za infektsionnymi zabolevaniyami [Possibilities and prospects of using massive parallel sequencing methods in the diagnosis and epidemiological surveillance of infectious diseases]. *Medial*, 2014, vol. 2, pp. 6–28.

12. Eddouaouda K., Mnif S., Badis A., Younes S.B., Cherif S., Ferhat S., et al. Characterization of a novel biosurfactant produced by *Staphylococcus sp.* strain 1E with potential application on hydrocarbon bioremediation. *Journal of Basic Microbiology*, 2012, vol. 52, no. 4, pp. 408–418.

13. Koleshko O.I. Ekologiya mikroorganizmov pochvy: laboratornyy praktikum dlya biol. spets. un-tov [Ecology of soil microorganisms: laboratory practice for biol. specialist. un-tov]. Minsk, Vys. Shkola, 1981, pp. 176.

14. Metody pochvennoy mikrobiologii i biokhimii: ucheb. posobie. Pod red. D.G. Zvyagintseva [Methods of soil microbiology and biochemistry: textbook. allowance. Ed. D.G. Zvyagintsev]. Moscow, Izd-vo MGU, 1991, pp. 304.

15. Zenova G.M., Stepanov A.L., Likhacheva N.A. Praktikum po mikrobiologii pochv [Workshop on Microbiology of the soil]. Moscow, Izd-vo Mosk. un-ta, 2002, pp. 120.

16. Degtyareva I.A., Babynin E.V., Motina T.Yu., Sultanov M.I. Polnogenomnoe sekvenirovanie shtamma *Staphylococcus warneri*, izolirovannogo iz zagryaznennoy neftyu pochvy [Full-genome sequencing of the *Staphylococcus warneri* strain isolated from oil-contaminated soil]. *Proceedings of universities. Applied chemistry and biotechnology*, 2020, vol. 10, no. 1 (32), pp. 48–55.

Получено 08.12.2020

Об авторах

Дегтярева Ирина Александровна (Казань, Россия) – доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник Татарского НИИАХП – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН (420059, г. Казань, Оренбургский тракт, 20а; e-mail: pease-1963@mail.ru).

Бабынин Эдуард Викторович (Казань, Россия) – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики, Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет (420008, г. Казань, ул. Кремлевская, 18; e-mail: edward.b67@mail.ru).

Мотина Татьяна Юрьевна (Казань, Россия) – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Татарского НИИАХП – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН (420059, г. Казань, Оренбургский тракт, 20а; e-mail: motina.tatyana@mail.ru).

Салаватуллина Алсу Айратовна (Казань, Россия) – магистрант Казанского национального исследовательского технологического университета (420015, г. Казань, ул. Карла Маркса, 68; e-mail: alsu.salavatullina@gmail.com).

About the authors

Irina A. Degtyareva (Kazan, Russian Federation) – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor, Chief Researcher of Tatar Research Institute of Agrochemistry and Soil Science, Federal Research Center, Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences (20a, Orenburg tract, Kazan, 420059; e-mail: pease-1963@mail.ru).

Edward V. Babynin (Kazan, Russian Federation) – Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor, Department of Genetics, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University (18, Kremlevskaya str., Kazan, 420008; e-mail: edward.b67@mail.ru).

Tatyana Y. Motina (Kazan, Russian Federation) – Ph.D. in Biological Sciences, Senior Researcher of Tatar Research Institute of Agrochemistry and Soil Science, Federal Research Center, Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences (20a, Orenburg tract, Kazan, 420059; e-mail: motina.tatyana@mail.ru).

Alsu A. Salavatullina (Kazan, Russian Federation) – Undergraduate Student, Kazan National Research Technological University (68, Karl Marx str., Kazan, 420015; e-mail: alsu.salavatullina@gmail.com).