

UDC 579.252.2:579.252.5

**В.О. Іваниця, М.Д. Штеніков, А.М. Остапчук,
Н.Ю. Васильєва, Й. Калиновський**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: shtenikovnik@gmail.com

СІКВЕНС ГЕНОМУ *BACILLUS PUMILUS* ONU 554, ІЗОЛЬОВАНОГО З ГЛИБОКОВОДНИХ ДОННИХ ВІДКЛАДЕНЬ ЧОРНОГО МОРЯ

Метою роботи було проаналізувати структуру геному бактерій штаму *Bacillus* sp. ONU 554, ізолюваного з донних осадів Чорного моря, для його ідентифікації та виявлення генів, що відповідають за синтез біологічно активних сполук. **Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження були структура та характеристика геному антагоністично активних бактерій штаму *Bacillus pumilus* ONU 554. Геному ДНК було секвеновано з використанням секвенатора HiSeq 1500 (Illumina). Збирання геному виконано з використанням асемблера Newbler версії 2.8, визначення видової приналежності штаму - за допомогою сервера TYGS, підрахунок ANI - з використанням Ezbiocloud. Анотування геному здійснили за допомогою серверів PATRIC та NCBI PGAP, пошук кластерів біосинтезу антибіотиків та бактеріоцинів - за допомогою antiSMASH та Bagel4, відповідно. Пошук детермінант патогенності виконувався за допомогою IslandViewer, резистентності до антибіотиків - ResFinder-3.2, пошук профагових елементів з використанням PHASTER. **Результати.** За даними повногеномного порівняння та 16S рРНК *Bacillus* sp. ONU 554 було ідентифіковано як *Bacillus pumilus* ONU 554. Його геном має розмір 3 642 544 п.о., який менший за геном типового штаму на 90 кб за рахунок ряду делецій. Виявлено плазмиду, чотири профагових елементи, один з яких на плазміді та 14 біосинтетичних кластерів, з яких три належать бактеріоцинам. **Висновки.** Таким чином, можна стверджувати, що дані повногеномного секвенування є більш надійним інструментом видової ідентифікації ніж аналіз тотального жирно кислотного профілю, а штаму, геном якого проаналізовано, може стати об'єктом для подальшої молекулярно-біотехнологічної роботи з вивчення та гетерологічної експресії виявлених кластерів.

Ключові слова: *Bacillus pumilus*, анотація геному, морські бактерії, донні відкладення, Чорне море, бактеріоцини, антимікробні сполуки.

Геноміка стала важливим напрямком біологічних досліджень, а її дані впливають на розвиток більш класичних галузей біології, таких, як теорія еволюції, біологія індивідуального розвитку, екологія тощо; також геноміка стає все більш важливою для прикладного знання, в першу чергу біотехнології [12, 13].

Розвиток геноміки неможливий без накопичення геномних даних – зокрема, власне секвенованих геномів у систематизованій формі, та їх анотацій.



Рід *Bacillus* є цікавим об'єктом досліджень через поєднання таких рис, як велика таксономічна та біологічна різноманітність видів, які до нього належать та надзвичайно нерівномірну їх вивченість [15]. Остання проявлена, в тому числі, в кількості опублікованих геномів. Так, для типового виду роду і активного продуцента антибіотиків *B. subtilis* у базі даних GenBank на цей час опубліковано 170 повних геномів, небезпечного патогену *B. anthracis* – 62, перспективного для агропромисловості фітосимбіонту *B. velezensis* 146, відповідно. Натомість, такий вид, як *B. pumilus*, що належить до найдавніших з описаних видів цього роду, у тій самій базі даних представлено лише 14 зібраними геномами, враховуючи той, що представлено за результатами даної роботи. Брак геномів, придатних для порівняльного аналізу, ускладнює або навіть робить неможливим проведення узагальнюючих досліджень щодо геноміки окремих груп мікроорганізмів. Така ситуація не може бути названа задовільною, як через високий біосинтетичний потенціал даного виду (зокрема, здатність до біосинтезу специфічних антибіотиків гібридної нерибосомної пептидно-полікетидної природи – амікумацинів [19]), так і в контексті такого, що поступово формується, уявлення про значущість бактерій даного виду як фіто- та ентопатогенів [8, 11].

У ході наших попередніх досліджень з глибини 1888 м в точці з координатами 44° 37.243'N 35° 42.286'E отримано ізолят грампозитивних бактерій *Bacillus* sp. ONU 554, який виявляє антагоністичну активність до цілого ряду умовно-патогенних мікроорганізмів та синтезує широкий спектр позаклітинних гідролітичних ферментів [18]. За спектром жирних кислот його віднесено до виду *B. megaterium* [1]. Наявність вираженої антагоністичної активності по відношенню до ряду збудників опортуністичних інфекцій людини і тварин у поєднанні з високою біосинтетичною активністю, виявленою за допомогою рідинної хроматографії-мас-спектрометрії, стали мотивацією для проведення повногеномного секвенування цього штаму.

Метою даної роботи було проаналізувати структуру геному бактерій штаму *Bacillus* sp. ONU 554, ізольованого з донних осадів Чорного моря, для його ідентифікації та виявлення генів, що відповідають за синтез біологічно активних сполук. Для вирішення цього завдання вибрано геномний майнінг, який є ефективним засобом скрінингу продуцентів потенційних біологічно-активних метаболітів, оскільки він дозволяє виявити, окрім інших, генетичні кластери, що не експресуються за лабораторних умов з тих чи інших причин [25].

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були структура та характеристики геному бактерій штаму *Bacillus* sp. ONU 554, ізольованого із донних осадів шельфу Чорного моря з глибини 1888 м та ідентифікованого за спектром жирних кислот до виду *B. megaterium*. Виділення ДНК здійснювали за модифікованим методом [7]. Секвенування ДНК виконано в Інституті фармацевтичних досліджень Гельмгольца землі Саар (Федеративна Республіка Німеччина). Отриману геномну ДНК секвенувано з використанням двох бібліотек з короткою та довгою вставкою на приладі HiSeq 1500 (Illumina). Збирання рідів *de novo* ви-



конана з використання асемблера Newbler (версія 2.8). Для визначення виду на основі даних гену 16S РНК та повногеномного порівняння використовували інструмент TYGS [16]. Обрахування OrthoANI виконували за допомогою Ezbiocloud [23]. Анотування геному виконували за допомогою серверів PATRIC[22], порівняльний аналіз - за допомогою SEED[17]. За результатами PATRIC також побудована карта геному засобами даного серверу.

Пошук кластерів біосинтезу антибіотиків та бактеріоцинів виконували за допомогою antiSMASH 5.0 [5] та Vage I4 [20], відповідно, детермінант патогенності - за допомогою IslandViewer [4] та VirulenceFinder 2.0 [9], для пошуку детермінант резистентності використано ResFinder [24], профагових елементів – FASTER [1].

Результати та обговорення

Проведені дослідження встановили, що показник dDDH порівняння штаму *Bacillus* sp. ONU 554 з типовим штамом виду *Bacillus pumilus* NCTC 10337 складає лише 64,5%, що менше за критерій у 70% [2]. Різниця ГЦ-вмісту становить 0,22, що значно перевищує критичний показник видового розмежування. Значення критерію OrthoANI сягає 95,68%, що вище за дефінітивний критерій 95% [14]. Отже, за наведеними результатами обрахування індексів повногеномної подібності досліджуваній штам можна ідентифікувати як *Bacillus pumilus* ONU 554.

Геном *Bacillus pumilus* ONU 554 сягає 3642544 пар основ, що на 96,9 кб менше за геном типового штаму. Дана різниця може бути пояснена наявністю в геномі типового штаму *Bacillus pumilus* SH-B9 наступних інсерцій у порівнянні з геномом *Bacillus* sp. ONU 554: 331019-345833 п.о. (14,8 кб), 548738-579024 п.о. (30,2 кб), 1223547-1231981 п.о. (8,4 кб), 2509952-2550934 п.о. (40,1 кб), 2835168-2838616 п.о. (3,4 кб). Певний надлишок відносно зкомпенсовано невеликими інерціями: 854620-862290 п.о. (7,7 кб), 1681273-1686993 п.о. (5,7 кб), 3366808-3376515 п.о. (9,7 кб). Важливою особливістю геному *Bacillus* sp. ONU 554 є наявність у його складі відносно великої плазмиди, яка гомологічна плазмиді штаму *Bacillus pumilus* SH-B9.

Базові геномні характеристики наведено у таблиці 1, візуалізація геномної анотації – на рисунку 1.

Цікавим є набір біосинтетичних кластерів, наявних у геномі цього штаму (табл. 2). По-перше, жоден з виявлених кластерів не є повністю гомологічним до відомих з даних літератури. По-друге, системою Vage I4 ідентифіковано три генетичні детермінанти синтезу різних бактеріоцинів. Один з них – пуміларин, що належить до відносно добре охарактеризованої групи циклізованих «голова до хвоста» пептидів, до якої належить інший відомий для бацил бактеріоцинів – амілоцикліцин, характерний для бацил групи *Bacillus amyloliquefaciens* [21] та виявлений у іншого з досліджених штамів – *B. velezensis* ONU 553. Інші два бактеріоцини – клостицин, який раніше був відомий для кластрідій [10], та UviВ значно менш вивчені [3]. Останній бактеріоцинів належить до групи так званих холін-подібних бактеріоцинів.

Холін-подібні бактеріоцини отримали свою назву завдяки подібності первинної структури та властивостей до специфічних фагових білків –



Таблиця 1

Базові показники геному *Bacillus pumilus* ONU 554

Table 1

Basic genome characteristics of *Bacillus pumilus* ONU 554

Показник	<i>Bacillus pumilus</i> ONU 554
Розмір геному, п.н.	3642544
Вміст ГЦ пар, %	41,93
Плазміда	1
Білок-кодуєчі ВРЗ	3749
Гени функціонально анотованих білків	3019
Гени не ідентифікованих білків	730
Гени тРНК	81
Гени рРНК	24
Гени профагів	3
Повтори	57

Таблиця 2

Характеристики та локалізація кластерів, виявлених у геномі

***Bacillus pumilus* ONU 554**

Table 2

Characteristics and localization of clusters, found in the genome

***Bacillus pumilus* ONU 554**

Тип кластеру	Локалізація, п.о.		Найбільш схожий відомий кластер	Подібність, %
	З	По		
Нерибосомна пептидсинтетаза	334174	416332	Ліхенізін	85
Нерибосомна пептидсинтетаза, полікетидсинтетаза 1 типу.	618110	698411	Цвіттерміцин	18
Ферменти біосинтезу терпеноїдів та сидерофорів	1051156	1,079,477	Каротиноїд	50
Беталактон	1 752368	1 780023	Фенгіцин	50
Ферменти біосинтезу терпеноїдів	1847856	1868573	-	-
Полікетидсинтетаза 3 типу.	1 906917	1 948017	-	-
Бактеріоцин	2257590	2267916	Пумілярин	-
Беталактон	2 394071	2 426376	-	-
Бактеріоцин	2713932	2734121	UviB	-
Ферменти біосинтезу терпеноїдів	2963108	2984028	-	23
Інші	3307316	3348737	Бацілізін	85
Бактеріоцин	3293027	3313906	Клостіцин	-
Нерибосомна пептидсинтетаза	3 576143	3 625851	Бацілібактин	55



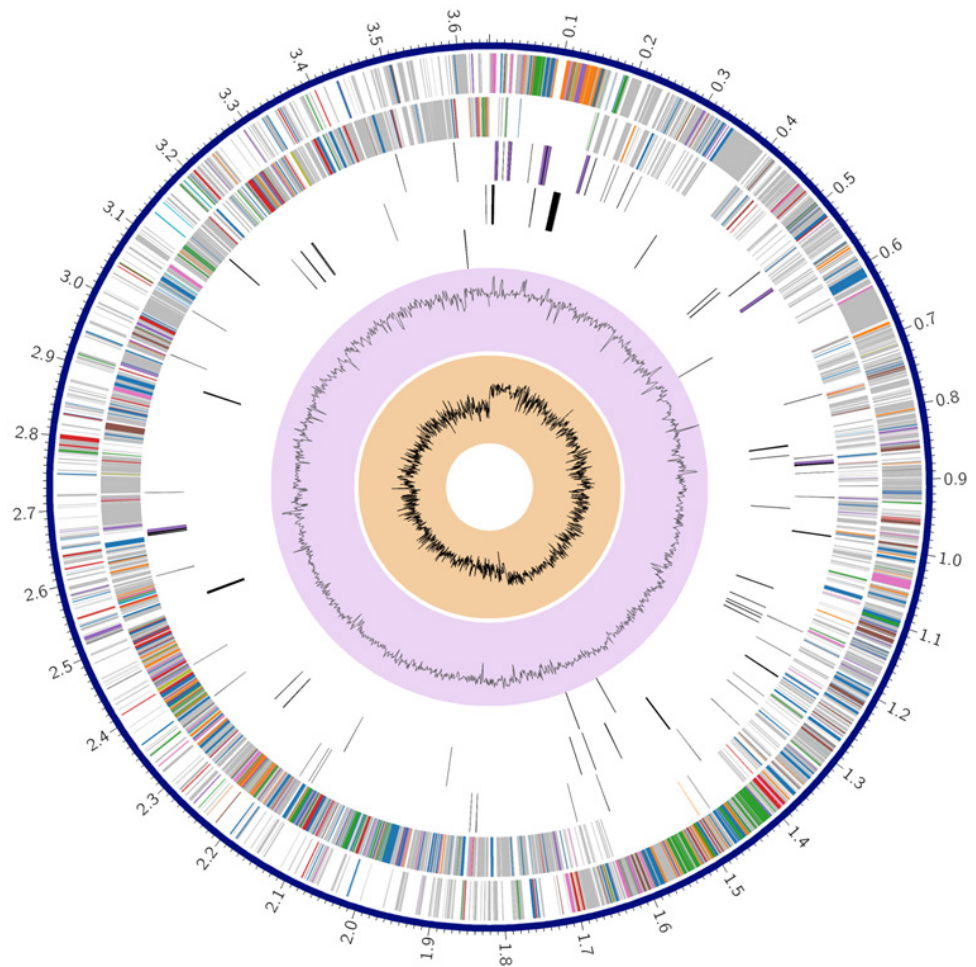


Рис. 1. Карта геному *Bacillus pumilus* ONU 554

Fig. 1. Map of the genome of the *Bacillus pumilus* ONU 554

Примітка: З зовні всередину карти: контигі, відкриті рамки зчитування (ВРЗ) на лідируючому ланцюгу, ВРЗ на відстаючому ланцюгу, гени РНК, ВРЗ, що мають гомологію до відомих детермінант антибіотикорезистентності, ВРЗ, що мають гомологію до відомих факторів патогенності, відсоток ГЦ-пар, ГЦ-асиметрія між ланцюгами. Колір лінії відповідає належності відкритої рамки зчитування до певної функціональної підсистеми: синій – метаболізм, зелений – процесинг білків, фіолетовий – відповідь на стрес, захист, вірулентність, помаранчевий – клітинні процеси, червоний – біоенергетика, коричневий – метаболізм ДНК, рожевий – мембранний транспорт, сірий – метаболізм РНК, жовтий – поверхневий апарат клітини, голубий – регуляція та передача сигналу, світло-голубий – різне.

Note: From outer to inner circles: contigs, open reading frames (ORF) on the leading strand, ORF on lagging strand, RNA genes, ORF with homology to known antimicrobial resistance genes, ORF with homology to known virulence factors, GC content, GC-skew. The colors of the ORF on the forward and reverse strands indicate the subsystem that these genes belong: blue – metabolism, green – protein processing, purple – stress response, defense, virulence, orange – cellular processes, red – bioenergetics, brown – DNA processing, pink – membrane transport, grey – RNA processing, yellow – cell envelope, light-blue – regulation and signal transfer, turquoise – miscellaneous.



холінів, які перфорують мембрану бактеріальної клітини на пізніх стадіях інфекції та сприяють її руйнуванню, в тому числі забезпечуючи вихід фагових лізоцимів назовні клітини.

Усі виявлені в геномі бактерій штаму профаги також властиві типовому штаму (рис. 2; табл. 3). Цікаво, що один з профаг-подібних елементів, щоправда, досить сильно деградований, розташований на плазміді (табл. 3, графа 3).

Таблиця 3

Профагові елементи, виявлені у геномі *Bacillus pumilus* ONU 554

Table 3

Prophage elements, found in the genome *Bacillus pumilus* ONU 554

Профаг	Розмір (кб)	Кількість білок-кодуючих ВРЗ	Локалізація профагового елемента, п.о.		ГЦ пар, %
			З	По	
1	47,7	65	2671911	2719632	39,61
2	41,7	36	2707120	2748899	39,9
Профаг плазміди	6,5	13	64616	71128	37,92

З використанням сервера PATRIC у геномі досліджуваного штаму виявлено 3 749 відкриті рамки зчитування, з них для 3 019 (80,5%) приписано біологічну функцію, а 730 залишилась не ідентифікованими. Визначено також 105 генів РНК, з них генів тРНК – 81, а генів рРНК – 24.



Рис. 2. Карта хромосоми *Bacillus pumilus* ONU 554 (зліва) та плазміди рONU 554 (справа) з локалізацією профагових елементів, виявлених PHASTER

Fig. 2. Map of the *Bacillus pumilus* ONU 554 chromosome (left) and plasmid (right) with localization of prophage elements, found PHASTER



Пошук за допомогою інструмента IslandViewer та VirulenceFinder 2.0 не виявив детермінант патогенності в геномах штамів *Bacillus* sp. ONU 554, за допомогою ResFinder-3.2 - не виявив детермінант резистентності до аміноглікозидів, бета-лактамів, колістину, фосфоміцину, фузидової кислоти, глікопептидів, макролідів, нітроїмідазолу, оксазолідинону, хінолонів, ріфампіцину, сульфаніламідів, тетрацикліну та триметоприму. Виявлено детермінанту резистентності до хлорамфеніколу – ген *cat-86* (хлорамфенікол-ацетилтрансфераза, номер доступу до референсу в базі Genbank K00544.1). Його локалізація в хромосомі 1163650-1164311 пар основ; ідентичність гену референтній послідовності складає 93,2%.

Таким чином, можна стверджувати, що дані повногеномного секвенування є надійнішим інструментом видової ідентифікації ніж аналіз тотального жирнокислотного профілю, а штам, геном якого проаналізовано, може стати інструментом для подальшої молекулярно-біотехнологічної роботи з вивчення та гетерологічної експресії виявлених кластерів.

Послідовності хромосоми штаму *Bacillus pumilus* ONU 554 та його плазмиди рONU 554 задепоновано в базі Genbank під номерами CP060799 та CP060800, відповідно.

**В.А. Іваниця, М.Д. Штеніков, А.М. Остапчук,
Н.Ю. Васильєва, Й. Калиновський**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: shtenikovnik@gmail.com

СИКВЕНС ГЕНОМА *BACILLUS PUMILUS* ONU 554, ІЗОЛІРОВАНОГО ІЗ ГЛУБОКОВОДНИХ ДОННИХ ОТЛОЖЕНИЙ ЧЕРНОГО МОРЯ

*Целью работы было проанализировать структуру генома бактерий штамма *Bacillus* sp. ONU 554, который был выделен из глубоководных донных отложений Черного моря, для его идентификации и выявления генов, которые отвечают за синтез биологически активных соединений. **Материалы и методы.** Объектом исследования были структура и характеристики генома антагонистически активных бактерий штамма *Bacillus pumilus* ONU 554. Геномная ДНК была секвенирована с использованием секвенатора HiSeq 1500 (Illumina). Сборка генома выполнена с использованием ассемблера Newbler версии 2.8, определение видовой принадлежности штамма - с помощью сервера TYGS, подсчет ANI - с использованием Ezbiocloud. Аннотирование генома осуществлялось с помощью серверов PATRIC и NCBI PGAP, поиск кластеров биосинтеза антибиотиков и бактериоцинов - с помощью antiSMASH и Bagel4, соответственно. Поиск детерминант патогенности выполнялся с помощью IslandViewer, резистентности к антибиотикам - ResFinder-3.2, поиск профаговых элементов с использованием PHASTER. **Результаты.** По данным полногеномного сравнения и 16S рРНК *Bacillus* sp. ONU 554 был идентифицирован как *Bacillus pumilus* ONU 554. Его геном имеет размер 3642544 п.о., который меньше генома обычного штамма на 90 кб за счет ряда делеций. Выявлена плазида, четыре профаговых эле-*



мента, один из которых на плазмиде, и 14 биосинтетических кластеров, из которых три относятся к бактериоцинам. **Выводы.** Таким образом, можно утверждать, что данные полногеномного секвенирования являются более надежным инструментом видовой идентификации, чем анализ тотального жирнокислотного профиля, а штамм, геном которого был проанализирован, может стать объектом для дальнейшей молекулярно-биотехнологической работы по изучению и гетерологической экспрессии выявленных кластеров.

Ключевые слова: *Bacillus pumilus*, аннотация генома, морские бактерии, донные отложения, Черное море, бактериоцины, антимикробные соединения.

**V.O. Ivanytsia, M.D. Shtenikov, A.M. Ostapchuk,
N.Y. Vasylieva, J. Kalinowski**

Odesa I.I. Mechnykov National University,
2, Dvoryanska Str., Odessa, 65082, Ukraine, e-mail: shtenikovnik@gmail.com

SEQUENCING OF THE GENOME *BACILLUS PUMILUS* ONU 554 ISOLATED FROM DEEP WATER SEDIMENTS OF BLACK SEA

The aim of the work was to analyse the structure of the genome of bacteria of the strain *Bacillus* sp. ONU 554 for its identification and revealing of the genes which are responsible for production of biologically active compounds. **Materials and methods.** The object of the study were structure and characteristics of antagonistically active bacteria of the strain *Bacillus pumilus* ONU 554. Genomic DNA was sequenced using the sequencer NiSeq 1500 (Illumina). The genome was assembled using the Newbler assembler version 2.8, the species of the strain was determined using a TYGS server, and the ANI was calculated using Ezbiocloud. Genome annotation was performed using PATRIC and NCBI PGAP servers, and clusters of antibiotic and bacteriocin biosynthesis were searched using antiSMASH and Bagel4, respectively. Search for determinants of pathogenicity was performed using IslandViewer, antibiotic resistance - ResFinder-3.2, search for prophage elements using PHASTER. **Results.** According to whole genome comparison and 16S rRNA of *Bacillus* sp. ONU 554 was identified as *Bacillus pumilus* ONU 554. Its genome is 3,642,544 bp in size, which is 90 kb smaller than the genome of a type strain due to a number of deletions. A plasmid, four prophage elements, one of which is on the plasmid, and 14 biosynthetic clusters, three of which belong to bacteriocins, were identified. **Conclusions.** Thus, we can conclude that whole-genome sequencing data are a more reliable tool for species identification than analysis of the total fatty acid profile, and the strain whose genome was analyzed can become an object for further molecular biotechnological work on the exploration and heterological expression of the identified clusters.

Key words: *Bacillus pumilus*, genome annotation, marine bacteria, bottoms sediments, Black sea, bacteriocins, antimicrobial compounds.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Arndt D., Grant J.R., Marcu A., Sajed T., Pon A., Liang Y., Wishart D. S. et al. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. // *Nucleic Acids Res.* – 2016. – V. 44, N 1. – P. 16–21.
2. Auch A.F., von Jan M., Klenk H.P., Göker M. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. // *Standards in genomic sciences.* – 2010. – V. 2, N 1. – C. 117–134.
3. Aunpad R., Panbangred W. Evidence for two putative holin-like peptides encoding genes of *Bacillus pumilus* strain WAPB4. // *Current microbiology.* – 2012. – V. 64, N 4. – C. 343–348.
4. Bertelli C., Laird M.R., Williams K.R., Lau B.Y., Hoad G et al. IslandViewer 4: Expanded prediction of genomic islands for larger-scale datasets. // *Nucleic Acids Research.* – 2017. – 45. – P. 30–35.
5. Blin K., Shaw S., Steinke K., Villebro R., Ziemert N., Lee S. Y. et al. antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. // *Nucleic Acids Res.* – 2019. – V. 47, N 1. – P. 81–87.
6. De S., Kaur G., Roy A., Dogra G., Kaushik R., Yadav P. et al. A Simple Method for the Efficient Isolation of Genomic DNA from Lactobacilli Isolated from Traditional Indian Fermented Milk (dahi). // *Indian J Microbiol.* – 2010. – V. 50, N 4. – P. 412–418.
7. Garcia-Ramon D.C., Molina C.A., Osuna A., Vilchez S. An in-depth characterization of the entomopathogenic strain *Bacillus pumilus* 15.1 reveals that it produces inclusion bodies similar to the parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis*. // *Applied microbiology and biotechnology.* – 2016. – V. 100, N 8. – P. 3637–3654.
8. Ivanytsia V.O., Shtenikov M.D., Ostapchuk A. M. [Facultatively anaerobic sporeforming bacteria of deep-sea sediments of the Black sea]. // *Microbiology & Biotechnology.* – 2017. – V. 40, N 4. – P. 94–103. Ukrainian.
9. Joensen K.G., Scheutz F., Lund O., Hasman H., Kaas R.S., Nielsen E.M. et al. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*. // *J. Clin. Microbiol.* – 2014. – V. 52, N 5. – P. 1501–1510.
10. Kemperman R., Kuipers A., Karsens H., Nauta A., Kuipers O., Kok J. Identification and characterization of two novel clostridial bacteriocins, circularin A and closticin 574. // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2003. – V. 69, N 3. – P. 1589–1597.
11. Kovaleva V.A., Shalovylo Y.I., Gorovik Y.N., Lagonenko A., Evtushenkov A. N., Gout R. *Bacillus pumilus* – a new phytopathogen of Scots pine. // *Journal of Forest Science.* – 2015. – V. 61, N 3. – P. 131–137.
12. Kubicek C.P., Steindorff A.S., Chenthamara K., Manganiello G., Henrissat B., Zhang J. et al. Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. // *BMC genomics.* – 2019. – V. 20, N 1. – P. 485.
13. Kyrpides N.C. Fifteen years of microbial genomics: meeting the challenges and fulfilling the dream. // *Nature biotechnology.* – 2009. – V. 27, N 7. – P. 627–632.



14. Lee I., Kim Y. O., Park S.C., Chun J. OrthoANI: an improved algorithm and software for genome-based species definition of Bacteria and Archaea // 第七届全国微生物资源学术暨国际微生物系统与分类学研讨会. – 2015. – P. 180–180.
15. Logan N.A., De Vos P. *Bacillus*. In: Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria Ed Whitman WB. John Wiley & Sons, Inc, 2015. Режим доступу: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00530/abstract>
16. Meier-Kolthoff J.P., Göker M. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. // Nat Commun. – 2019. – V. 10, N 1. – P. 1–10.
17. Overbeek R., Olson R., Pusch G.D., Olsen G.J., Davis J.J., Disz T. et al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). // Nucleic acids research. – 2014. – V. 42, N 1. – P. 206–214.
18. Shtenikov M.D., Ostapchuk A.M., Ivanytsia V.O. Antagonistic activity of endosporeforming bacteria of deep water the Black Sea sediments. // Microbiology & Biotechnology. – 2018. – V. 43, N 3. – P. 82–89.
19. Tyurin A.P., Efimenko T.A., Prokhorenko I.A., Rogozhin E.A., Malanicheva I.A., Zenkova V.A. Amicoumacins and Related Compounds: Chemistry and Biology. // Studies in Natural Products Chemistry. – Elsevier, 2018. – 55. – P. 385–441.
20. van Heel A.J., de Jong A., Song C., Viel J. H., Kok J., Kuipers O.P. BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins. // Nucleic Acids Res. – 2018. – V. 46, N 1. – P. 278–281.
21. van Heel A.J., Montalban-Lopez M., Oliveau Q., Kuipers O.P. Genome-guided identification of novel head-to-tail cyclized antimicrobial peptides, exemplified by the discovery of pumilarin. // Microbial genomics. – 2017. – Vol. 3. – № 10. doi: 10.1099/mgen.0.000134
22. Wattam A.R., Brettin T., Davis J.J., Gerdes S., Kenyon R., Machi D. et al. Assembly, Annotation, and Comparative Genomics in PATRIC, the All Bacterial Bioinformatics Resource Center. In: Comparative Genomics. Methods Mol Biol. New York: Humana Press; 2018. p. 79–101.
23. Yoon S.H., Ha S.M., Lim J.M., Kwon S. J., Chun, J. A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. // Antonie van Leeuwenhoek. – V. 2017. – V. 110, N 10. – P. 1281–1286.
24. Zankari E., Hasman H., Cosentino S., Vestergaard M., Rasmussen S., Lund O. et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. // J Antimicrob Chemother. – 2012. – V. 67, N 11. – P. 2640–2644.
25. Zhao X., Kuipers O.P. Identification and classification of known and putative antimicrobial compounds produced by a wide variety of Bacillales species. // BMC Genomics. – 2016. – V. 17, N 1. – P. 1–18.



References

1. Arndt D, Grant JR, Marcu A, Sajed T, Pon A, Liang Y, Wishart DS et al. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Res.* 2016;44(1):16-21.
2. Auch AF, von Jan M, Klenk HP, Göker M. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Standards in genomic sciences.* 2010;2(1):117-134.
3. Aunpad R, Panbangred W. Evidence for two putative holin-like peptides encoding genes of *Bacillus pumilus* strain WAPB4. *Current microbiology.* 2012;64(4):343-348.
4. Bertelli C, Laird MR, Williams KR, Lau BY, Hoad G et al. IslandViewer 4: Expanded prediction of genomic islands for larger-scale datasets. *Nucleic Acids Research.* 2017;45:30-35.
5. Blin K, Shaw S, Steinke K, Villebro R, Ziemert N, Lee S Y et al. antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline. *Nucleic Acids Res.* 2019;47(1):81-87.
6. De S, Kaur G, Roy A, Dogra G, Kaushik R, Yadav P et al. A Simple Method for the Efficient Isolation of Genomic DNA from Lactobacilli Isolated from Traditional Indian Fermented Milk (dahi). *Indian J Microbiol.* 2010;50(4):412-418.
7. Garcia-Ramon, DC et al. An in-depth characterization of the entomopathogenic strain *Bacillus pumilus* 15.1 reveals that it produces inclusion bodies similar to the parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis*. *Applied microbiology and biotechnology.* 2016;100(8):3637-3654.
8. Ivanytsia VO, Shtenikov MD, Ostapchuk AM. [Facultatively anaerobic sporeforming bacteria of deep-sea sediments of the Black sea]. *Microbiology & Biotechnology.* 2017;40(4):94-103. Ukrainian.
9. Joensen KG, Scheutz F, Lund O, Hasman H, Kaas RS, Nielsen EM et al. Real-time whole-genome sequencing for routine typing, surveillance, and outbreak detection of verotoxigenic *Escherichia coli*. *J Clin. Microbiol.* 2014;52(5):1501-1510.
10. Kemperman R, Kuipers A, Karsens H, Nauta A, Kuipers O, Kok J. Identification and characterization of two novel clostridial bacteriocins, circularin A and closticin 574. *Applied and Environmental Microbiology.* 2003;69(3):1589-1597.
11. Kovaleva VA, Shalovylo YI, Gorovik YN, Lagonenko A, Evtushenkov AN, Gout R. *Bacillus pumilus* – a new phytopathogen of Scots pine. *Journal of Forest Science.* 2015;61(3):131-137.
12. Kubicek CP, Steindorff AS, Chenthamara K, Manganiello G, Henrissat B, Zhang J. et al. Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. *BMC genomics.* (2019);20(1):485.
13. Kyrpides, NC. Fifteen years of microbial genomics: meeting the challenges and fulfilling the dream. *Nature biotechnology.* 2009;27(7):627-632.
14. Lee I, Kim YO, Park SC, Chun J OrthoANI: an improved algorithm and software for genome-based species definition of Bacteria and Archaea // 第七届全国微生物资源学术暨国际微生物系统与分类学研讨会. 2015:180-180.



15. Logan NA, De Vos P. *Bacillus*. In: Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria Ed Whitman W B John Wiley & Sons, Inc, 2015. Режим доступу: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm00530/abstract>
16. Meier-Kolthoff JP, Göker M. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. *Nat Commun.* 2019;10(1):1-10.
17. Overbeek R, Olson R, Pusch GD, Olsen GJ, Davis JJ, Disz T et al. The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic acids research.* 2014; 42(1):206-214.
18. Shtenikov MD, Ostapchuk AM, Ivanytsia VO. Antagonistic activity of endosporeforming bacteria of deep water the Black Sea sediments. *Microbiology & Biotechnology.* 2018;43(3):82-89.
19. Tyurin AP, Efimenko TA, Prokhorenko IA, Rogozhin EA, Malanicheva IA, Zenkova VA. Amicoumacins and Related Compounds: Chemistry and Biology. *Studies in Natural Products Chemistry.* Elsevier, 2018. 55:385-441.
20. van Heel AJ, de Jong A, Song C, Viel JH, Kok J, Kuipers O P. BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(1):278-281.
21. van Heel AJ, Montalban-Lopez M, Oliveau Q, Kuipers O P. Genome-guided identification of novel head-to-tail cyclized antimicrobial peptides, exemplified by the discovery of pumilarin. *Microbial genomics.* 2017;3(10). doi: 10.1099/mgen.0.000134
22. Wattam AR, Brettin T, Davis JJ, Gerdes S, Kenyon R, Machi D et al. Assembly, Annotation, and Comparative Genomics in PATRIC, the All Bacterial Bioinformatics Resource Center. In: *Comparative Genomics. Methods Mol Biol.* New York: Humana Press; 2018. p. 79-101.
23. Yoon SH, Ha SM, Lim JM, Kwon SJ, Chun, J. A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2017;110(10):1281-1286.
24. Zankari E, Hasman H, Cosentino S, Vestergaard M, Rasmussen S, Lund O et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(11):2640-2644.
25. Zhao X, Kuipers O P Identification and classification of known and putative antimicrobial compounds produced by a wide variety of Bacillales species. *BMC Genomics.* 2016;17(1):1-18.

Стаття надійшла до редакції 17.11.2020 р.

