

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

**СОВРЕМЕННАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ
И БИОТЕХНОЛОГИЯ
ГЛАЗАМИ МОЛОДЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ**

Материалы Всероссийской научной конференции
2–4 апреля 2014 г.

*Конференция организована при финансовой поддержке
Российского фонда фундаментальных исследований
(грант № 14-04-06806 мол_г_1)*

Томск
Издательский Дом
Томского государственного университета
2014

6. Карначук Р.А., Дорофеев В.Ю., Медведева Ю.В., Дубина В.Б., Суслов Н.И., Чурин А.А. Клеточная культура *Atragene speciosa* Weinm. – возможный продуцент биологически активных веществ ноотропного и адаптогенного действия // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 1. - Москва: Изд-во «Радиотехника», 2011. - С. 31 - 37.

7. Дорофеев В.Ю., Карначук Р.А., Пулькина С.В., Комлева Е.В., Дубина В.Б., Медведева Ю.В. Культура княжика сибирского (*Atragene speciosa* Weinm.) *in vitro*: цитогенетический анализ и образование тритерпеновых гликозидов и флавоноидов // Вестник Томского государственного университета, Биология, 3(7). - Томск: Томский государственный университет, 2009. - С. 37 - 41.

ПОДБОР УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПОДЗЕМНОЙ ГЛУБИННОЙ БИОСФЕРЫ

Н.С. Каланда, Ю.А. Франк, О.В. Карначук

Кафедра физиологии растений и биотехнологии,
Томский государственный университет, Томск

Большинство микроорганизмов из природной среды не поддаются лабораторному культивированию и поэтому определяются как «некультивируемые». Многие филогенетические группы были идентифицированы в природе только по фрагментам ДНК. Поэтому получение культур новых микроорганизмов является актуальной задачей.

Результаты современных исследований показывают, что некоторые ранее «некультивируемые» бактерии могут расти при применении модифицированных и усовершенствованных подходов. Так, использование нетрадиционных доноров, акцепторов электронов и источников углерода может обеспечивать более эффективное культивирование [1]. По данным Мейер-Домбард с соавторами [2], более быстрый рост культур происходит в условиях, имитирующих природную среду, по сравнению со стандартными средами, содержащими минеральные вещества в повышенных концентрациях. Задача микробиологов состоит в том, чтобы определить необходимые питательные вещества и ввести их в среду в определенных концентрациях, одновременно избегая выпадения химических соединений в осадок [1].

Целью работы было получение накопительной культуры сульфидогенных микроорганизмов из подземной термальной (около 50 °С), высокоминерализованной воды глубинной скважины РЗ. Нефтепоисковая скважина РЗ расположена в Парабельском районе Томской области. Ранее было охарактеризовано микробное разнообразие в воде скважины с применением молекулярных методов и отмечена его сезонная динамика [3], [4].

В ходе исследования получена накопительная культура сульфидогенных микроорганизмов РЗа. Источником для получения культуры была подземная вода из скв. РЗ. Культивирование первоначально проводили на пресноводной среде Видделя, модифицированной по содержанию микроэлементов, с добавлением желатина. С помощью ПЦР-ДГГЭ было показано, что единственным сульфидогенным микроорганизмом в накопительной культуре является редкая бактерия, обитающая в геотермальных экосистемах - *Desulfoviregula thermocuniculi* [5].

Для выделения микроорганизма в чистую культуру подбирали селективные условия. Тестировали рост культуры на среде Видделя различного состава: стандартной пресноводной и солоноватоводной, модифицированной по микроэлементам. Наиболее стабильный рост отмечен на пресноводной среде Видделя, несмотря на то, что исходная подземная вода отличается высокой минерализацией и содержит до 8 г хлоридов на литр. Этот факт согласуется с данными исследователей, впервые выделивших *Desulfoviregula thermocuniculi* в чистую культуру [6].

Проведена серия экспериментов с добавлением различных органических веществ - доноров углерода и электронов: ацетата, формиата, пирувата, лактата, фумарата, желатина, цитрата. Культивирование проводили при разных температурных режимах (+50 °С, +70 °С) при нейтральном рН. Было выявлено, что микроорганизмы культуры РЗа, помимо желатина, способны эффективно утилизировать цитрат, в том числе при + 70 °С. На среде с традиционными субстратами для выращивания сульфатредуцирующих бактерий - пируватом, лактатом, а также на среде с ацетатом, формиатом и фумаратом рост отсутствовал (таблица 1).

Ранее при микроскопическом исследовании культуры на среде с добавлением желатина были обнаружены клетки с различной морфологией (вибрионы, палочки кокковидные формы). На среде с цитратом клетки представлены только палочковидными спорообразующими формами.

Таблица 1 - Рост культуры Р3а на среде с добавлением различных органических субстратов

Субстрат \ Температура	Лактат	Фумарат	Цитрат	Формиат	Ацетат	Пируват	Желатин
+50 °С	-	-	+	-	-	-	+
+70 °С	-	-	+	-	-	-	+

Примечание: «-» - рост не обнаружен, «+» - рост обнаружен визуально и микроскопически

В результате подбора условий культивирования была получена линия культуры на среде Видделя с цитратом, выделенная из отдельной колонии на твердой среде. Филогенетическое положение выделенных микроорганизмов будет установлено в ходе последующего молекулярно-биологического анализа.

Исследование поддержано грантом Президента РФ № МК-1919.2013.4. Авторы благодарны С.М. Сафарян за помощь в культивировании.

Литература

1. Alain K., Querellou J. Cultivating the uncultured: limits, advances and future challenges // *Extremophiles*. – 2009. - V.13. – P.583-594.
2. Meyer-Dombard D.R., Shok E.L., Amend J.P. Effects of trace element concentrations on culturing thermophiles // *Extremophiles*. – 2012. – V.16, I. 2. – P.317–331.
3. Frank Y.A., Gavrilo S.N., Gerasimchuk A.L., Komleva E.V., Kopnova A.V., Kazakovtseva M.V., Tronova T.M., Banks D., Bonch-Osmolovskaya E.A. and Karnachuk O.V. Seasonal variations of *Bacteria* and *Archaea* in the outflow of deep thermal hydrocarbon-bearing reservoir in Western Siberia, Russia // *Extremophiles 2010 book of abstracts*. – 2010. – P. 242.
4. Франк Ю.А., Комлева Е.В., Курганская И.А., Тронова Т.М. Использование молекулярных методов для обнаружения микроорганизмов-деструкторов углеводов в воде нефтепоисковой скважины // *Проблемы региональной экологии*. – 2011. -№3. – С.147-154.
5. Франк Ю.А., Сафарян С.М., Карначук О.В. *Desulfoviregula thermocuniculi* – ключевой сульфидогенный микроорганизм в накопительной культуре из геотермальной экосистемы в Томской

области // Актуальные аспекты современной микробиологии: IX молодежная школа-конференция с международным участием. Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН. Москва, 21-23 октября 2013 г., г.: Тезисы. – М.: МАКС Пресс, 2013. – С. 29-31.

6. Kaksonen A.H., Spring S., Schumann P., Kroppenstedt R.M. and Puhakka J.A. *Desulfoviregula thermocuniculi* gen nov., sp.nov., a thermophilic sulfate-reducer isolated from a geothermal underground mine in Japan // IJSEM. – 2007. – V.57. – P. 98-102.

ВЛИЯНИЕ ИНСЕРЦИИ ГЕНА *hmgI* НА РОСТ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА

А.А. Ермошин, С.А. Борцова, Ю.В. Санаева, О.С. Синенко
Уральский федеральный университет, Екатеринбург

Введение. Рост – это интегральный процесс, связанный с увеличением размера тела растения. Увеличение размеров растений может быть интересно с практической точки зрения, так как может приводить к росту общей биологической продуктивности, что имеет большое значение для практики сельского хозяйства.

Известно, что на процессы роста большое влияние оказывают фитогормоны, в том числе, brassinosteroids и цитокинины. По своей природе brassinosteroids являются изопреноидами, синтезирующимися в цитозоле. Цитокинины также имеют изопентинильный (изопреноидный) фрагмент. Этапом, лимитирующим скорость новообразования изопреноидов в цитозоле, является образование первого специфического продукта – мевалоновой кислоты. Реакция конденсации 3-оксиметилглутарил-КоА в мевалонат катализируется ферментом, который кодируется генами семейства *hmg* [1].

В связи с этим, целью данной работы было изучение влияния инсерции гена *hmgI* в прямой и обратной ориентации относительно промотора на размеры листьев трансгенных растений табака.

Объект и методы исследования. В работе использовали трансгенные растения табака сорта «Самсун». Растения выращивали в закрытом грунте на биостанции УрФУ (г. Двуреченск, Сысертский р-н Свердловской обл.) при естественном фотопериоде. Посадочный материал микроклонально размножали и культивировали на среде МС с 3% сахарозы и 50 мг/л селективного антибиотика сульфата канамицина в