

них насекомых и, таким образом, опосредованно модулировать их «on-spot» устойчивость к инсектицидам. В наших исследованиях мы выкармливали сестринские (генетически идентичные) линии тлей *Myzus persicae* и *Aphis gossypii* на редьке черной, моркови посевной, перце овощном и свекле обыкновенной и, после не менее чем 1 месяца поддержания культуры на кормовом растении, оценивали такие параметры как вес имаго (прямое взвешивание), активность эстераз и цитохромов р450 (спектрофлуориметрический метод с флуоресцин-диацетатом и 7-этоксикумарином в качестве субстратов, соответственно) и активность экспрессии гена СУР6СУ3 (РТ-ПЦР) и выживаемость при контакте с препаратами, содержащими тиаметоксам, имидаклоприд или пиримифос-метил (учет смертности в эксперименте). Оказалось, что тли, питавшиеся на указанных растениях, отличались по всем оцениваемым параметрам, причем в большинстве случаев различия являлись высокозначимыми ($p \leq 0,000$). Во всех случаях питание на разных кормовых растениях приводило к различиям в уровне активности как эстераз, так и СУР450 у тлей, причем активация эстераз и СУР450 происходила независимо. Выживаемость тлей при контакте с инсектицидами всегда значимо различалась ($p \leq 0,00$). Таким образом, было показано, что питание на конкретном кормовом растении приводит к изменению устойчивости тлей к воздействию неоникотиноидов и органофосфатов, что связано с изменением активности белков системы детоксикации в процессе питания вредителей.

Причины индукции реакции гиперчувствительности у растений *Nicotiana tabacum* при контакте с клетками *Pectobacterium atrosepticum* 21A

Дюбо Ю.В.*, Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: yuliyadiubo@gmail.com.

Программируемая клеточная смерть играет важную роль во многих процессах развития растений. Не меньше ее роль и в развитии инфекционного процесса. Локальная гибель клеток, или реакция гиперчувствительности (РГ), в местах внедрения патогена как правило локализует инфекцию и активирует системные защитные реакции, делая растение более устойчивым к последующим атакам родственных патогенов. РГ типична при попытке заражения патогеном нехозяинских растений, однако специализированный патоген картофеля *Pectobacterium atrosepticum* обычно не вызывает эту реакцию у растений табака *Nicotiana tabacum*. Тем не менее, единственный из штаммов *P. atrosepticum* из нашей коллекции, белорусский изолят 21А, является хорошим индуктором РГ. Целью настоящей работы являлось выяснение причины этого уникального свойства штамма 21А. Геномы различных штаммов *P. atrosepticum* имеют очень высокую степень сходства друг с другом (99% и более), поэтому мы попытались найти отличительные особенности штамма 21А с помощью сравнительной геномики. Различия хромосомных последовательностей между штаммами оказались связаны в основном с мобильными генетическими элементами: профагами и IS-элементами, в составе которых генов, способных иметь отношение к взаимодействию с растениями, выявить не удалось. Уникальной для штамма 21А оказалась относительно крупная (32 т.н.п.) плаزمида рРА21А, в которой можно выделить не менее трех локусов, потенциально ответственных за наблюдаемый фенотип. Плазмида несет ген фосфолипазы D, способной расщеплять клеточные липиды до фосфатидной

кислоты, которая является известным индуктором клеточной гибели. Кроме того, мы предполагаем, что кодируемый плазмидой сиртуин-подобный белок может являться регулятором, модифицирующим иммунные реакции растений. Наконец, плазида несет полноразмерный кластер генов системы секреции IV типа, способной транспортировать бактериальные белки в клетки растений. Введение pRA21A в клетки бесплазмидного штамма *P. atrosepticum* придало последнему способность индуцировать РГ, что подтверждает ответственность за этот фенотип расположенных на плазмиде генов. Идет конструирование делеционных вариантов плазмиды, лишенных предполагаемых факторов вирулентности, для уточнения роли последних в индукции РГ.

АФК-зависимая индукция разрывов ДНК в клетках протонемы *Physcomitrella patens* под действием засоления

Звонарёв С.Н.^А, Мацкевич В.С.^А, Angelis К.Ж.^Б, Демидчик В.В.^{А*}

¹ Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: dzemidchyk@bsu.by

² Институт Экспериментальной Ботаники, АН Чешской Республики, Прага, Чехия

Засоление – глобальная проблема, затрагивающая треть обрабатываемых почв на планете. Несмотря на высокий интерес к исследованиям в этой области, механизмы влияния повышенных уровней NaCl на растительную клетку до сих пор остаются неясными. Общеизвестно, что засоление не является генотоксическим стрессом, т.е. предполагается, что его воздействие на затрагивает повреждение ДНК. Однако в последние годы показано, что засоление способно индуцировать генерацию гидроксильных радикалов и других активных форм кислорода. В то же время, синтез гидроксильных радикалов является ключевым механизмом воздействия на ДНК генотоксических веществ, например, некоторых тяжелых металлов, многих окислителей и токсинов. Также посредством генерации гидроксильного радикала воздействуют на ДНК различные формы ионизирующего излучения. Ранее было обнаружено, что в корнях высших растений высокие уровни NaCl вызывают всплеск синтеза гидроксильных радикалов (Demidchik et al., 2010, Journal of Cell Science). Таким образом, можно предположить, что в клетках растений могут происходить разрывы ДНК, связанные с синтезом АФК и приводящие к повреждению генетического материала. Одной из удобных моделей для изучения разрывов ДНК является протонема мха *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp (фискомитрелла). Для данной экспериментальной системы отлажена техника электрофореза ДНК одиночных клеток (COMET). В настоящей работе мы предприняли попытку продемонстрировать, что NaCl способен вызывать генерацию АФК в клетках фискомитреллы, по возможности, показать долю гидроксильных радикалов в общей продукции АФК, а также измерить и проанализировать одиночные и двойные разрывы ДНК в ответ на повышенные концентрации NaCl. Для решения данных задач нами был развит ряд подходов, базирующихся на использовании эпифлуоресцентной микроскопии. Была разработана методика измерения АФК в клетках фискомитреллы при помощи флуоресцентного зонда дигидроэтидий (ДГЭ) и адаптирована техника Comet для определения разрывов ДНК. При использовании ДГЭ обычно имеется проблема высокого фонового свечения и возникновения артефактов при связывании промежуточных продуктов окисления ДГЭ с ДНК, обладающих сильной флуоресценцией в красной области.