

удаление металлов из клетки, в том числе с участием трансмембранных белков, осуществляющих перенос ионов через тонопласт в цитозоль и далее через плазмалемму в апопласт. Почти ничего не известно о роли водородных помп тонопласта и плазмалеммы в процессе адаптации растений к тяжелым металлам, хотя этот вопрос обсуждается в литературе. Поиск ответов на эти и другие вопросы необходим для более глубокого понимания механизмов, обеспечивающих высокую устойчивость и адаптацию растений к высоким концентрациям тяжелых металлов. Причем ответы на них важны не только в теоретическом, но и в практическом плане, так как они могут быть использованы в селекционно-генетических работах, направленных на отбор и/или создание сортов (генотипов, экотипов), способных проявлять интересующие нас свойства в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами.

Снижение скорости роста, генерация активных форм кислорода и индукция запрограммированной клеточной гибели в корнях *Triticum aestivum* L. при обработке наночастицами меди

Кирисюк Ю.В.^{А,*}, Демидчик В.В.^А

^АБелорусский государственный университет, Минск, Беларусь

^ББрестский государственный университет, Брест, Беларусь

*Email: yulya.kirisyuk@mail.ru

Интенсивное применение наноматериалов, в особенности, металл-содержащих наночастиц, может привести к их накоплению в окружающей среде в токсических для растений концентрациях. Ряд исследований показывает, что уровень некоторых металл-содержащих наночастиц в почве, загрязненной городскими отходами, уже сейчас достигает нескольких миллиграмм на килограмм сырой почвы. Несмотря на прогрессирующее количество публикаций по теме нанотоксичности, влияние металл-содержащих наночастиц на организм растения остается изученным крайне плохо. В представленной работе было исследовано первичное влияние медных наночастиц на физиологические процессы в корне важнейшей сельскохозяйственной культуры – пшеницы. В качестве объекта исследования выступали проростки *Triticum aestivum* L. (сорт Дарья). Тестировалось влияние медных наночастиц ($d = 38 \pm 4$ нм; MTI Corporation, США) и медного балка (< 75 мкм; Sigma), а также супернатанта, полученного после центрифугирования наночастиц. Использовалась стандартная световая и эпифлуоресцентная микроскопия, рулонные ростовые тесты и техника пэтч-кламп. В результате проведенных исследований было установлено, что наночастицы меди при введении их в среду выращивания растений в концентрации свыше 50 мг/л снижают скорость роста корней пшеницы по сравнению с балком и супернатантом. Они также стимулировали генерацию активных форм кислорода (тест на основе флуоресцентного зонда дигидрорезитидиум) и индуцировали увеличение доли клеток корня пшеницы с симптомами запрограммированной клеточной гибели (с 3-5% до 40-70%). При этом наблюдалась конденсация цитоплазмы и отделение плазматической мембраны от клеточной стенки, а также потемнение цитоплазмы и формирование в ней темных телец. При обработке растений медным балком или супернатантом эти повреждения проявлялись в меньшей степени. Анализ биохимических симптомов запрограммированной клеточной гибели (уровня протеазной активности), активирующихся в клетках корня пшеницы под действием наночастиц меди, был

проведен с использованием флуоресцентного маркера CaspACE™ (Promega, США). Было установлено, что доля клеток с высоким уровнем активности протеаз возрастает после обработки корней пшеницы наночастицами; балк и супернатант вызывали меньшие по силе эффекты. Также было показано, что эффекты наночастиц на активность протеаз подавляются антиоксидантами и блокаторами Ca²⁺-проницаемых и калиевых каналов. Были проведены пилотные опыты с использованием техники пэтч-кламп, продемонстрировавшие активацию внутрь-направленных Ca²⁺-проводимостей под действием наночастиц меди. Таким образом, полученные результаты указывают на токсическое влияние наночастиц меди на корни пшеницы, превосходящее по интенсивности эффекты медного балка и супернатанта. Наиболее вероятными первичными причинами токсичности являются гиперпродукция активных форм кислорода и ионный дисбаланс, формирующийся в результате активации редок-чувствительных катионных каналов плазматической мембраны под действием наночастиц. Исследование поддержано БРФФИ и Минобразования РБ, №20163145.

Роль PhoP в зависимом от кворум-сенсинга проявлении вирулентности *Pectobacterium* sp.

Кравченко У.А.*, Крук А.Н., Николайчик Е.А.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

*Email: ulyaulyami@gmail.com

Устойчивость растений к заболеваниям, как и успешность колонизации патогенами растений, зависят от работы сигнальных систем в клетках взаимодействующих организмов. Некротрофный патоген *Pectobacterium carotovorum* поражает растения, используя богатый арсенал гидролитических ферментов для разрушения поверхностных структур клеток растений. Растения способны детектировать промежуточные продукты гидролиза полимеров клеточной стенки экзоферментами патогена и активировать соответствующие иммунные реакции, однако при высокой активности экзоферментов промежуточные продукты расщепляются полностью, и активации иммунитета не происходит. Ключевой для патогена является координирующая уровень экспрессии гидролитических экзоферментов с плотностью бактериальной популяции система кворум-сенсинга, состоящая из двух белков ExpI (ацилгомосеринлактонсинтазы) и ExpR (ацилгомосеринлактон-зависимого транскрипционного фактора). В ходе исследования транскрипционных факторов *P. carotovorum* мы заметили сайт связывания одного из них, PhoP, перед геном *expI*, что предполагает возможность контроля кворум-сенсинга с помощью PhoP. Настоящее исследование имеет целью экспериментально подтвердить взаимосвязь вышеуказанных регуляторных систем и возможность ранней активации факторов вирулентности патогена за счет PhoP-зависимой детекции дивалентных катионов и антимикробных пептидов при контакте с растением. К настоящему моменту сконструирован и частично охарактеризован инсерционный *phoP*-мутант, у которого выявлено снижение как пектолитической активности, так и выработки ацилгомосеринлактона, а также зарегистрировано изменение вирулентности на растениях картофеля. Поскольку снижение пектолитической активности может быть как прямым следствием инактивации *phoP* (из-за PhoP-сайтов перед генами пекатлаз), так и опосредованным результатом снижения выработки ацилгомосеринлактона и репрессии синтеза вторичных метаболитов через