

БЕЛОРУССКИЙ РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ФОНД
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ



К 60-летию кафедры генетики

**ГЕНЕТИКА
И БИОТЕХНОЛОГИЯ
XXI ВЕКА.
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
И ПРИКЛАДНЫЕ
АСПЕКТЫ**

МАТЕРИАЛЫ
Международной научной конференции
3–6 декабря 2008 г., Минск

Минск
«Издательский центр БГУ»
2008

бактерий, клеточной и молекулярной биологии лейкозов, цитометрии и генетического мониторинга.

В составе кафедры 2 доктора наук, 4 кандидата наук и 2 преподавателя без степени. Штат научных сотрудников в подразделениях представлен 11 единицами. В учебном процессе уже в течение многих лет принимают активное участие известные ученые, доктора и кандидаты наук ГНУ «Институт генетики и цитологии» НАН Беларуси – доктора и кандидаты наук. Учебный процесс обеспечивают 5 сотрудников учебно-вспомогательного персонала.

За кафедрой закреплено 7 общих курсов для студентов дневной формы обучения специальности «Биология» и «Биоэкология» и 3-х курсов для студентов заочной формы обучения:

- Генетика
- Цитология и гистология
- Теория эволюции
- Молекулярная биология гена
- Селекция продуцентов
- История биологии
- Философские проблемы биологии (для философского факультета БГУ).

Преподаватели кафедры осуществляют чтение 12-и специальных курсов для студентов специальности «Биология» и «Биотехнология» дневного отделения, 4-х спецкурсов для заочного отделения и 2-х – для магистрантов.

Тематика специальных курсов, читаемых по кафедре генетики целиком отвечает специализации кафедры и соответствует нескольким направлениям:

– классическая генетика и цитология (специальные курсы «Генетика человека», «Генетический анализ», «Патология клетки», «Частная генетика и селекция растений», «Прикладные аспекты генетики», «Современные аспекты биологии клетки»);

– молекулярная генетика (спецкурсы «Молекулярная генетика», «Нехромосомная наследственность», «Непостоянство генома», «Современные аспекты генетического анализа», «Генетическая регуляция метаболизма про- и эукариот»);

– биотехнология (спецкурсы «Биоинженерия растений и биобезопасность», «Генотерапия», «Введение в генотерапию»).

Высокий уровень образования на кафедре поддерживается внедрением современных технологий: учебно-методических комплексов, модульного обучения, рейтинговой системы оценки знаний студентов, компьютерные тестовые задания для контроля самостоятельной работы студентов в сетевой образовательной платформе e-UNIVERSITY, электронные версии курсов лекций и т.д. Большую помощь в практической подготовке студентов оказывают институты НАН Беларуси – ГНУ «Институт генетики и цитологии», ГНУ «Институт биоорганической химии», ГНУ «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», а также ряд Научно-исследовательских институтов и центров системы Минздрава Беларуси – РНПЦ гематологии и трансфузиологии, РНПЦ детской онкологии и гематологии, РНПЦ «Мать и дитя», где студент проходят производственную и преддипломную практику.

Обучение в аспирантуре осуществляется по специальности 03.00.15 – генетика, 03.00.26 – молекулярная генетика и 03.00.23 – биотехнология и предусматривает подготовку высококвалифицированных специалистов для учреждений соответствующего профиля Республики Беларусь. Из стен кафедры вышли 12 докторов наук 75 кандидатов наук, более 800 специалистов генетиков.

Развитие учебного процесса на кафедре тесно связано с разрабатываемыми научными направлениями:

Индукцируемые трефланом изменения числа клеток с нарушениями хроматина, увеличение пероксидазной активности, а также количество восстановленной формы глутатиона в клетках исследуемых сортов ячменя коррелировали со степенью ингибирования ростовых процессов. Динамика роста корневой системы ячменя в присутствии трефлана при концентрации 0,1 мг/л свидетельствует о более сильном фитотоксическом действии гербицида на растения сортов «Гонар» и «Дзивосны». В меньшей степени гербицид при концентрации 0,1 мг/л угнетал рост корневой системы проростков ячменя сортов «Сталы» и «Атаман». Сильный ростугнетающий эффект, который проявляется у растений всех изученных сортов при концентрации трефлана 1,0 мг/л не позволяет выявить дифференциальной чувствительности к гербициду.

Таким образом, гербицид трефлан, индуцирует реакцию окислительного стресса у ячменя, что связано с нарушением полимеризации микротрубочек цитоскелета. Растения ячменя сорта «Сталы» обладают меньшей чувствительностью к гербицидному препарату трефлану. Об этом свидетельствуют меньшая степень повреждений микротрубочек цитоскелета, отсутствие индукции пероксидазной активности и более высокий уровень глутатиона в клетках.

Установлено, что маркерами устойчивости различных форм ячменя к воздействию гербицидов, как неблагоприятного фактора внешней среды, могут служить не только биохимические (степень индукции ферментов пероксидазного комплекса, количество восстановленного глутатиона в клетках растений), но и цитогенетические (количество клеток с нарушениями генетического аппарата) критерии. Полученные результаты могут являться основой для разработки подходов направленной селекции устойчивых к действию гербицидов сельскохозяйственных растений.

1. Signal transduction networks and the biology of plant cells / *M.J. Chrispeels [et al.]* // Biol. Res. 1999. Vol. 32, № 1. P. 35–60.
2. *Papakonstanti E.A., Vardaki E.A., Stournaras C.* Actin cytoskeleton: a signaling sensor in cell volume regulation // Cell Physiol. Biochem. 2000. Vol. 10, № 5/6. P. 257–264.
3. *Alscher R.G., Donahue J.L., Cramer C.L.* Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells // Physiol. Plant. 1997. Vol. 100, № 2. P. 224–233.
4. *Vanacker H., Carver T.L.W., Foyer C.H.* Pathogen-induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves // Plant Physiol. 1998. Vol. 117. P. 1103–1114.

DspE-ЗАВИСИМАЯ СИСТЕМНАЯ ИНДУКЦИЯ PR-ГЕНОВ РАСТЕНИЙ *SOLANUM LYCOPERSICUM* ПРИ КОНТАКТЕ С БАКТЕРИЯМИ *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM*

Е.А. Николайчик, О.К. Присяженко, Л.Н. Валентович, В.Д. Поликсенова

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

nikolaichik@bio.bsu.by

Белок DspE фитопатогена *Pectobacterium carotovorum* (*Pca*) был охарактеризован нами недавно как основной индуктор реакции гиперчувствительности (РГ) этими бактериями у устойчивых растений [1]. В отличие от других продуцируемых бактериями *Pca* белковых элиситоров РГ (например, харпинов HrpN и HrpW) белок DspE неспособен индуцировать РГ при контакте с поверхностью клеток растений, а должен быть доставлен (при помощи системы секреции III типа) непосредственно внутрь растительной клетки [1, 2, 3]. Многие данные указывают на важную роль DspE в процессе колонизации растения бактериальным патогеном, однако до сих пор информация о молекулярном механизме действия этого белка внутри растительной клетки отсутствует.

Целью настоящей работы было исследование участия DspE в индукции системного защитного ответа растений, сопровождающего развитие РГ при контакте с бактериями *Pca*.

Растения томата *Solanum lycopersicum* не являются естественным хозяином для бактерий *Pca*, поэтому такое взаимодействие является несовместимым (заметны только симптомы РГ в месте контакта с патогеном, заболевание не развивается).

В работе были использованы шестинедельные растения *S. lycopersicum* с тремя настоящими листьями, а также бактерии вирулентного белорусского штамма *Pca* 3-2 и его *dspE*-мутанта. Семядольные листья растений были инокулированы суспензиями клеток штамма 3-2 и его *dspE*-мутанта, а также не содержащим клеток буферным раствором. Образцы тканей растений из незараженного (второго настоящего) листа для оценки развития защитных реакций отбирались через 24 часа после инокуляции. Развитие системного ответа растений детектировалось методом количественной ПЦР по уровню экспрессии известных PR-генов *S. lycopersicum*. Для выделения РНК из отобранных образцов был использован Tri reagent (Sigma), для синтеза кДНК – обратная транскриптаза M-MLV (Promega), для ПЦР – реагенты компании ПраймТех.

Полученные данные (рисунок) четко демонстрируют значительно более высокий уровень экспрессии нескольких PR-генов в растениях *S. lycopersicum*, инокулированных суспензиями клеток бактерий штамма 3-2, по сравнению с интактными или инокулированными только буфером растениями. Наиболее существенной оказалась индукция PR-генов осмотина (*PR-5o*), *PR-2*, а также маркера РГ *HSR515*; в меньшей степени были индуцированы гены *PR-1B* и *PR-5x*. В то же время в незараженных листьях не было отмечено значительного изменения уровня экспрессии генов *PR-3* и *PR-1A*.

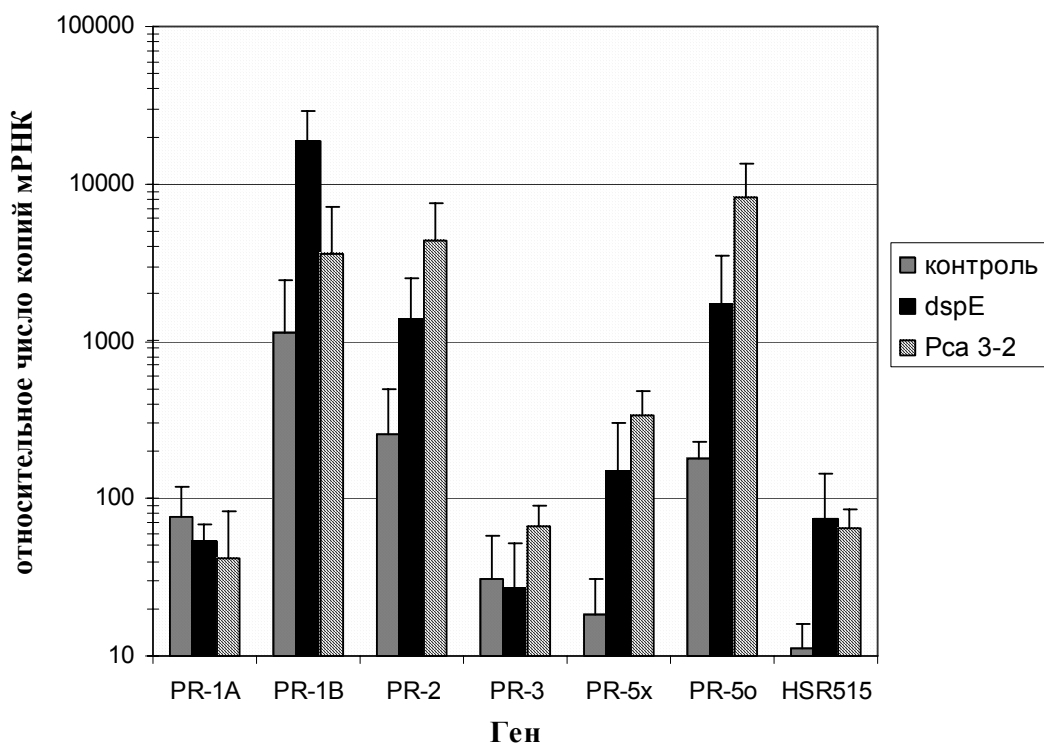


Рис. Индукция экспрессии PR-генов *Solanum lycopersicum* при контакте с бактериями *Pectobacterium carotovorum*. Представлены средние трех измерений со стандартным отклонением.

Инактивация гена *DspE* существенно повлияла на спектр PR-генов растений *S. lycopersicum*, индуцируемых бактериями *Pca*. При использовании для инокуляции растений клеток *dspE*-мутанта степень индукции обоих генов семейства PR-5, а также PR-2 была меньшей по сравнению с исходным штаммом, однако все равно более высокой, чем в контроле. В то же время при инокуляции растений суспензиями клеток *dspE*-мутанта

степень индукции гена *PR-1B* была существенно выше, чем при использовании клеток немутантного штамма.

С учетом имеющихся в литературе сведений по контролю экспрессии *PR*-генов *S. lycopersicum* наши данные позволяют говорить о двойной роли белка DspE бактерий *Pca* при взаимодействии с этими растениями. С одной стороны, продукция этого белка немутантными бактериями (и доставка его в клетки растений) очевидно усиливает индукцию нескольких *PR*-генов (*PR-2*, *PR-5x* и *PR-5*), что соответствует характеру наблюдаемого взаимодействия бактерий с устойчивыми растениями. С другой стороны, существенно большая индукция *PR-1B* клетками штамма дикого типа в сравнении с клетками *dspE*-мутанта может свидетельствовать об участии эффекторного белка DspE в супрессии этого *PR*-гена растения, что может быть выгодным для патогена при инфекции чувствительного растения. Следует также отметить несколько неожиданную DspE-независимую индукцию маркера РГ (HSR515) в клетках листьев, непосредственно не контактировавших с патогеном.

1. Николайчик Е.А., Овчинникова Т.В., Валентович Л.Н., Губич О.И., Шолух М.В., Евтушенков А.Н. Транслокация белка DspE фитопатогенными бактериями *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* в клетки *Nicotiana tabacum* и его необходимость для индукции реакции гиперчувствительности // Доклады НАН Беларуси. 2005. Т.49, №5. с. 81-85
2. Николайчик Е.А., Лагоненко А.Л., Валентович Л.Н., Присяженко О.К., Евтушенков А.Н. Сравнительная характеристика харпинов HrpN *Erwinia carotovora* и *Erwinia amylovora* // Докл. НАН Б. 2007. Т.51, №3. С. 81-85
3. Лагоненко А.Л., Николайчик Е.А., Евтушенков А.Н. Характеристика харпина HrpW бактерий *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* // Докл. НАН Б. 2006. Т.50, №1. С. 70-73.

ИЗУЧЕНИЕ ОТВЕТА НА ХОЛОД И ЯРКИЙ СВЕТ МУТАНТА *NFZ24 ARABIDOPSIS THALIANA*

М.Г. Новокрещенова

Биологический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия
maria.novok@gmail.com

Холодовой стресс один из главных лимитирующих факторов развития и продуктивности растений в России. Адаптация растений к стрессу включает как морфологические, физиологические так и биохимические изменения. Один из важнейших регуляторов, который контролирует не только рост и развитие, но и ответы на воздействия окружающей среды, является гормон абсцизовая кислота (АБК). АБК играет важную роль во многих клеточных процессах и ответах на абиотические стрессы, в том числе низкую температуру. Анализ мутантов с измененной чувствительностью к стрессовым факторам – один из эффективных методов выявления генов, контролирующих адаптивный ответ. *Arabidopsis thaliana* является модельным растением, геном которого полностью секвенирован и для которого получены мутанты с измененной чувствительностью к разным абиотическим факторам. К сожалению, большинство исследований таких мутантов ограничиваются анализом чувствительности/устойчивости к отдельным стрессовым факторам, что не позволяет оценить всех последствий мутационных изменений для растения, а значит и перспектив использования мутантных генов этого вида для улучшения адаптивных свойств у хозяйственно ценных растений.

В данной работе исследован мутант *nfz24*, выделенный на кафедре генетики МГУ с помощью химического мутагенеза по устойчивости к индуктору окислительного стресса гербициду норфлуразону, который ингибирует биосинтез каротиноидов, вызывает фотодеструкцию хлорофилла и гибель растений. Мутант *nfz24* имеет светлую желто-зеленую окраску листьев и стебля, и, по данным проведенных ранее исследований,