

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

КОЗЫРЕВА
Екатерина Алексеевна

ЭФФЕКТЫ ЭКЗОГЕННЫХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА
АКТИВНОСТЬ H^+ -АТФАЗЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК *NITELLA*
***FLEXILIS* ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ**

АННОТАЦИЯ
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
ст. преподаватель Крытынская Е.Н.

Допущена к защите

«__» _____ 2016 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений
доктор биологических наук, доцент В.В. Демидчик

Минск, 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	3
РЕФЕРАТ	4
ВВЕДЕНИЕ	7
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1 Физиологический ответ растений на холодовой стресс	8
1.2 Работа H^+ -АТФазы в условиях температурного стресса	14
1.3 H^+ -АТФаза – ключевой фермент плазматической мембраны растительных клеток	17
1.4 Экзогенные карбоновые кислоты и устойчивость растений к стрессовым температурам	20
1.5 Химическая структура салициловой и янтарной кислот, синтез в растениях и участие в метаболизме	25
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	28
2.1 Характеристика объекта исследования	28
2.2 Метод фиксации потенциала на мембране	28
2.3 Условия и схема опыта	31
2.4 Статистическая обработка экспериментальных данных	32
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	34
3.1 Активность H^+ -АТФазной помпы в условиях разной темновой предобработки клеток при комнатной температуре	34
3.2 Индуцированная низкотемпературным стрессом реакция H^+ -АТФазной помпы плазматической мембраны клеток <i>Nitella flexilis</i>	37
3.3 Фотоиндуцированные изменения РЭП плазматической мембраны клеток <i>Nitella flexilis</i> под влиянием карбоновых кислот на фоне длительной гипотермии	41
3.4 Влияние салициловой кислоты на активность H^+ -АТФазы плазматической мембраны клеток <i>Nitella flexilis</i> в условиях длительного низкотемпературного стресса	46
3.5 Влияние янтарной кислоты на активность H^+ -АТФазы плазматической мембраны клеток <i>Nitella flexilis</i> в условиях длительного низкотемпературного стресса	49
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	52
ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ	53
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК	54

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 59 с., 1 таблица, 15 рисунков, 61 источник.

ЭФФЕКТЫ ЭКЗОГЕННЫХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ НА АКТИВНОСТЬ H^+ -АТФАЗЫ ПЛАЗМАЛЕММЫ КЛЕТОК *NITELLA FLEXILIS* ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОМ СТРЕССЕ.

Ключевые слова: H^+ -АТФаза, гипотермия, *Nitella flexilis*, стресс, разность электрических потенциалов, мгновенные вольт-амперные характеристики.

Объект исследования: плазматическая мембрана междоузлий пресноводной харовой водоросли *Nitella flexilis*.

Целью настоящей работы служило выявление эффектов экзогенных карбоновых (салициловой и янтарной) кислот на активность H^+ -АТФазы плазматической мембраны клеток *Nitella flexilis* при длительном (до 5 суток) низкотемпературном стрессе.

Методы исследования: внутриклеточное отведение мембранного потенциала, с применением стандартной методики микроэлектродных исследований, техники фиксации потенциала на мембране.

В результате исследований установлено, что с увеличением времени темновой предобработки от 1 до 5 суток в условиях комнатной температуры проводимость H^+ -АТФазной помпы снижается. Низкотемпературный стресс длительностью 1-5 суток вызывает подавление проводимости H^+ -АТФазной помпы в 2-2,2 раза по сравнению с контрольными значениями. Эффект снижения величины выходящего тока ослабевает к 5 суткам низкотемпературного стресса. В сравнении с янтарной кислотой, салицилат оказывает более выраженный эффект на уровень фотоэлектрической реакции. Максимальный сдвиг мембранного потенциала наблюдали при внесении кислот на фоне 1-суточной гипотермии в концентрации $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. 10^{-5} моль/л при этом служила концентрацией половинного эффекта. Регистрация МВАХ H^+ -АТФазы подтвердила, что салициловая и янтарная кислоты в концентрации 10^{-5} моль/л к 5 суткам воздействия гипотермии вызывают восстановление активности протонного насоса, о чем свидетельствуют рост величины выходящего тока и проводимости при потенциале реверсии тока.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 59 с., 1 табліца, 15 малюнкаў, 61 крыніца.

ЭФЕКТЫ ЭКЗАГЕННЫХ КАРБОНАВЫХ КІСЛОТ НА АКТЫЎНАСЦЬ H^+ -АТФАЗЫ ПЛАЗМАЛЕМЫ КЛЕТАК *NITELLA FLEXILIS* ПРЫ ПРАЦЯГЛЫМ НІЗКАТЭМПЕРАТУРНЫМ СТРЭСЕ.

Ключавыя словы: H^+ -АТФаза, гіпатэрмія, *Nitella flexilis*, стрэс, рознасць электрычных патэнцыялаў, імгненныя вольт-амперныя характарыстыкі.

Аб'ект даследавання: плазматычная мембрана міжвузелляў пресноводнай харавай багавінні *Nitella flexilis*.

Мэтай сапраўднай працы служыла выяўленне эфектаў экзагенных карбонавых (саліцылавай і бурштынавай) кіслот на актыўнасць H^+ -АТФазы плазматычнай мембраны клетак *Nitella flexilis* пры працяглым (да 5 сутак) нізкатэмпэратурным стрэсе.

Метады даследавання: ўнутрыклеткавае адвядзенне мембранныга патэнцыялу, з ужываннем стандартнай метадыкі мікраэлектродных даследаванняў, тэхнікі фіксацыі патэнцыялу на мембране.

У выніку даследаванняў устаноўлена, што з павелічэннем часу цемравой прадабработкі ад 1 да 5 сутак ва ўмовах пакаёвай тэмпературы праводнасць H^+ -АТФазнай помпы зніжаецца. Нізкатэмпэратурны стрэс працягласцю 1-5 сутак выклікае падаўленне праводнасці H^+ -АТФазнай помпы ў 2-2,2 разы ў параўнанні з кантрольнымі значэннямі. Эфект зніжэння велічыні які выходзіць току слабее да 5 сутак нізкатэмпэратурнага стрэсу. У параўнанні з бурштынавай кіслотой, саліцылатаў выклікае большы эфект на ўзровень фотаэлектрычнай рэакцыі. Максімальны зрух мембранныга патэнцыялу назіралі пры унясенні кіслот на фоне 1-сутачнай гіпатэрміі у канцэнтрацыі $5 \cdot 10^{-5}$ моль/л. 10^{-5} моль/л пры гэтым служыла канцэнтрацыяй палавіннага эфекту. Рэгістрацыя МВАХ H^+ -АТФазы пацвердзіла, што саліцылавая і бурштынавая кіслаты ў канцэнтрацыі 10^{-5} моль / л да 5 сутак ўздзеяння гіпатэрміі выклікаюць аднаўленне актыўнасці пратоннага помпы, пра што сведчаць рост велічыні які выходзіць току і праводнасці пры патэнцыяле рэверсіі току.

ABSTRACT

Thesis 59 p., 1 tables, 15 figures, 61 sources.

EFFECTS OF EXOGENOUS CARBOXYLIC ACIDS ON THE ACTIVITY OF H^+ -ATPASE PLASMA CELL IN *NITELLA FLEXILIS* LONG LOW TEMPERATURE STRESS.

Tags: H^+ -ATPase, hypothermia, *Nitella flexilis*, stress, electric potential difference, the instantaneous current-voltage characteristics.

The object of study: plasma membrane interstices freshwater algae-term *Nitella flexilis*.

The aim of this work served as the identification of the effects of exogenous carboxylic (salicylic and succinic) acids to the activity of H^+ -ATPase of the plasma membrane *Nitella flexilis* cells during long-term (up to 5 days) low-temperature stress.

Methods: intracellular recording membrane potential, using standard techniques microelectrode studies, technology of fixing on the membrane potential.

The studies found that the dark with increasing time of pretreatment 1 to 5 days at room temperature, the H^+ -ATPase pump conductivity decreases. Low temperature stress lasting 1-5 days conduction causes suppression of H^+ -ATPase pump in 2-2.2 times as compared with control values. The effect of reducing the value of the outgoing current is weakened to 5 days of low temperature stress. Compared with succinic acid, the salicylate has a marked effect on the level of a photovoltaic response. The maximum membrane potential shift was observed when making acid amid-1 daily hypothermia in a concentration of $5 \cdot 10^{-5}$ mol/L. 10^{-5} mol/L at half this concentration effect served. Register MVAH H^+ -ATPase confirmed that salicylic and succinic acid at a concentration of 10^{-5} mol/L to 5 days exposure recovery cause hypothermia proton pump activity, as evidenced by increase in the quantity and the outgoing current conduction when in potentials, current reversal.