

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

КУЧВАЛЬСКИЙ
Максим Владимирович

**УСТАНОВЛЕНИЕ РОЛИ АФК-АКТИВИРУЕМОГО K⁺-КАНАЛА GORK
В МОДИФИКАЦИИ РОСТА КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* L.
ПОД ДЕЙСТВИЕМ ВОДНОГО ДЕФИЦИТА И СОЛЕВОГО СТРЕССА**

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
доцент В.В. Демидчик

Допущен к защите
«___» _____ 2018 г.

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

Минск, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Реферат	4
Введение	7
Глава 1 Осмотический и солевой стрессы как важнейшие факторы, лимитирующие рост, развитие и распространение растений	9
1.1 Общефизиологические изменения в ответ на высокие уровни NaCl в среде, засуху и модельный осмотический стресс	9
1.1.1 Сигнальные процессы солевого стресса	11
1.1.2 Восприятие изменения осмоляльности почвенного раствора	11
1.1.3 Рецепция изменения ионного состава среды	12
1.1.4 Путь передачи сигналов солевого стресса	13
1.1.5 Трансдукция «осмотического сигнала»	14
1.1.6 Трансдукция «ионного сигнала»	15
1.1.7 Другие физиологические изменения: изменение уровня фитогормонов и продукция АФК	16
1.2 Динамика и качественные характеристики ответов на осмотический и солевой стресс	17
1.2.1 Ранние изменения в физиологии растений под действием засоления и водного дефицита	17
1.2.2 Изменения физиологических процессов, регистрирующиеся в течение суток и более с момента стрессирования	19
1.2.3 Долговременные модификации метаболизма и физиологии растений при солевом стрессе и водном дефиците	21
Глава 2 Роль выхода K^+ в ответе растительной клетки на засуху и засоление	23
2.1 Потеря K^+ при засухе	23
2.2 Выход K^+ из клеток растений при воздействии высоких уровней NaCl	26
Глава 3 АФК как регуляторы работы калиевых каналов	31
3.1 Ранние исследования АФК-активируемых ионных потоков	31
3.2 АФК-активируемые потоки K^+ в корнях высших растений	33
Глава 4 Материалы и методы исследования	36
4.1 Объект исследования	36
4.2 Культивирование растений <i>Arabidopsis thaliana</i> в стерильных условиях	36
4.3 Построение калибровочной кривой	38
4.4 Обработка данных	40
Глава 5 Результаты и их обсуждение	41
Заключение	50
Список использованных источников	52

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 61 с., 7 рисунков, 3 формулы, 127 источников.

АРАБИДОПСИС, МУТАНТЫ ПО КАЛИЕВОМУ КАНАЛУ GORK, КОРЕНЬ, ПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ МЕМБРАНА, КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ, СОЛЕВОЙ СТРЕСС, ВОДНЫЙ ДЕФИЦИТ, ЗАМЕНА СРЕДЫ

Объект исследования: проростки *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. 1) дикого типа Wassilewskija (Ws-0), содержащего GORK; 2) мутанта *gork1-1*, лишённого функционального GORK; 3) линии w56.7.4.8 – нокаута *gork1-1*, имеющего GORK с заменой цис-151 на серин; 4) линии w57.6.2.4 – *gork1-1* с возмещённым нативным GORK.

Первичными реакциями на водный дефицит и солевой стресс являются генерация АФК, повышение активности Ca^{2+} в цитоплазме, потеря K^+ и других ионов. Выход K^+ из клеток корня связан с активацией наружу-выпрямляющих K^+ -каналов GORK. Значительный интерес представляет поиск АФК-чувствительного сенсора, ответственного за активацию GORK.

Цель работы: установление роли АФК-чувствительного K^+ -канала GORK в модификации роста корня *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. под действием осмотического и солевого стресса с использованием техники замены среды.

В работе приведены результаты ростовых тестов с заменой среды на содержащую хлорид натрия или D-сорбитол, а также результаты тестов на прорастание и дальнейший рост семян.

Растения, лишённые функционального K^+ -канала GORK или несущие замену цис-151 на серин, продемонстрировали значительное снижение чувствительности к росту осмоляльности среды по сравнению с растениями дикого типа; до уровня D-сорбитола около 300 мМ у них не изменяется скорость роста основного корня, тогда как у растений дикого типа этот показатель в тех же условиях снижается до 40–45%. В растениях *gork1-1* и проростках линии w56.7.4.8 не было выявлено статистически достоверных отличий в ответе роста корня на высокие уровни NaCl.

Использование вертикальной стерильной культуры корневых проростков *Arabidopsis thaliana* L. и техники замены среды позволяет производить сравнительный анализ изменения ростовых процессов в корнях растений, имеющих различные генотипы, под действием изменения осмоляльности и солевого состава среды.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 61 с., 7 малюнкаў, 3 формулы, 127 крыніц.

АРАБІДОПСІС, МУТАНТЫ ПА КАЛІЕВЫМ КАНАЛЕ GORK, КОРАНЬ, ПЛАЗМАТЫЧНАЯ МЕМБРАНА, КАЛІЕВЫЯ КАНАЛЫ, СОЛЕВЫ СТРЭС, ВОДНЫ ДЭФІЦЫТ, ЗАМЕНА АСЯРОДДЗЯ

Аб'ект даследавання: праросткі *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. 1) дзікага тыпу Wassilewskija (Ws-0), які мае GORK; 2) мутанта *gork1-1*, пазбаўленага функцыянальнага GORK; 3) лініі w56.7.4.8 – накаўту *gork1-1*, які мае GORK з заменай цыс-151 на серын; 4) лініі w57.6.2.4 – *gork1-1* з адноўленым натыйным GORK

Першаснымі рэакцыямі на водны дэфіцыт і солевы стрэс з'яўляюцца генерацыя АФК, падвышэнне актыўнасці Ca^{2+} у цытаплазме, страта K^+ ды іншых іёнаў. Выйсце K^+ з клетак караня злучана з актывацыяй вонкі-выпрамляльных K^+ -каналаў GORK. Значную цікавасць уяўляе пошук АФК-адчувальнага сэнсара, адказнага за актывацыю GORK.

Мэта працы: усталяванне ролі АФК-адчувальнага K^+ -канала GORK у мадыфікацыі росту караня *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. праз асматычны і солевы стрэс з выкарыстаннем тэхнікі замены асяроддзя.

У працы прыведзены вынікі роставых тэстаў з заменай асяроддзя на тое, што ўтрымывае хларыд натрыю ці D-сарбітол, а таксама вынікі тэстаў на прарастанне і далейшы рост насення.

Расліны, пазбаўленыя функцыянальнага K^+ -канала GORK ці з заменай цыс-151 на серын, прадэманстравалі значнае зніжэнне адчувальнасці да росту асмаляльнасці асяроддзя ў параўнанні з раслінамі дзікага тыпу; да ўзроўня D-сарбітола каля 300 мМ у іх не змяняецца хуткасць росту асноўнага караня, тады як у раслін дзікага тыпу гэты паказчык у тых жа ўмовах змяншаецца да 40–45%. У раслінах *gork1-1* і праростках лініі w56.7.4.8 не было выяўлена статыстычна пэўных адрозненняў у адказе росту караня на высокія ўзроўні NaCl.

Выкарыстанне вертыкальнай стэрыльнай культуры каранёвых праросткаў *Arabidopsis thaliana* L. і тэхнікі замены асяроддзя дазваляе вырабляць параўнальны аналіз змены роставых працэсаў у каранях раслін, якія маюць розныя генатыпы, пад дзеяннем змены асмаляльнасці і солевага складу асяроддзя.

ABSTRACT

Thesis 61 p., 7 figures, 3 formulas, 127 sources.

ARABIDOPSIS, MUTANTS ON THE GORK POTASSIUM CHANNEL, ROOT, PLASMA MEMBRANE, POTASSIUM CHANNEL, SALT STRESS, WATER DEFICIENCY, MEDIUM SUBSTITUTION

Object of the investigation: *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. sprouts of 1) wild type Wassilewskija (Ws-0) with outward rectifying GORK channel; 2) *gork1-1* mutant lacking of functional GORK; 3) w56.7.4.8 line with C151S-mutated GORK channel; 4) w57.6.2.4 line with GORK restored.

ROS generation, increased cytoplasmic Ca^{2+} -activity and leakage of K^{+} and other ions are primary reactions due to water deficiency and salt stress. K^{+} efflux from root cells is associated with activation of the GORK outward-rectifying K^{+} -channels. The search of ROS-sensitive sensor responsible for GORK activation, could be of interest.

Objective: to establish the role of the ROS-sensitive GORK channel in the modification of root growth of *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. under the effect of osmotic and salt stress using medium replacement technique.

The results of growth tests with replacement of the medium with sodium containing chloride or D-sorbitol, as well as results of tests for germination and further seed growth, are given in the thesis.

Plants lacking the functional GORK channel with C151S replacement showed dramatic decrease in the sensitivity to medium osmolality growth compared to wild-type plants; they do not change the growth rate of the main root up to the level of D-sorbitol about 300 mM, whereas this parameter decreases under the same conditions to 40–45% in wild-type plants. In *gork1-1* and w56.7.4.8 plants no statistically significant difference was found in the root growth response to high NaCl levels.

The use of the vertical sterile culture of *Arabidopsis thaliana* L root shoots and the medium replacement technique allows a comparative analysis of changes in growth processes of plant roots with different genotypes under the effect of changes in osmolality and salt composition of the medium.