

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений

Шикер
Артур Александрович

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МОДИФИКАЦИЙ РОСТОВЫХ
ПРОЦЕССОВ И ИНДУКЦИИ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ
КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ В КОРНЯХ ПОДСОЛНЕЧНИКА И
ГОРОХА ПОД ДЕЙСТВИЕМ НИКЕЛЯ**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
старший преподаватель Мацкевич В.С.

Допущен к защите

«__» _____ 2020 года

Зав. Кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений

кандидат биологических наук, доцент

_____ И.И. Смолич

Минск, 2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Реферат	4
Введение.....	7
Глава 1 Обзор литературы.....	9
1.1 Запрограммированная клеточная гибель.....	9
1.1.1 Общая характеристика ЗКГ ее основные типы.....	9
1.2 Никелевый стресс.....	15
1.2.1 Никель общая характеристика.....	15
1.2.2 Никель как важный микроэлемент растений.....	16
1.2.3 Токсические эффекты никеля на растительный организм.....	17
Глава 2 Материалы и методы.....	20
2.1 Объекты исследования	20
2.2 Культивирование растений <i>Helianthus annuus</i> L. и <i>Pisum sativum</i> L., ростовые тесты	21
2.3 Анализ морфологических симптомов ЗКГ.....	21
2.4 Тест на жизнеспособность с помощью Evans Blue	21
2.5 Статистическая обработка данных.....	22
Глава 3 Результаты и их обсуждение.....	23
3.1 Первичные ответ клеток корня подсолнечника на никелевый стресс ...	23
3.1.1 Изменение прорастания и роста корней подсолнечника при воздействии ионов никеля	23
3.1.2 Развитие морфологических симптомов ЗКГ в корневых волосках подсолнечника при обработке Ni^{2+} -содержащими растворами.....	25
3.1.3 Тест на жизнеспособность корней при обработке Ni^{2+} и Ni^{2+} +Гис ..	26
3.2 Первичные ответные реакции клеток корней <i>Pisum sativum</i> , индуцированные никелем	29
3.2.1 Анализ прорастания и роста корней гороха при введении в среду выращивания Ni^{2+} и комплексов Ni^{2+} с гистидином	29
3.2.2 Индукция симптомов ЗКГ в клетках корня гороха при обработке растворами Ni и Ni+Гис	31
3.2.3 Тест на жизнеспособность корней при обработке Ni^{2+} и Ni^{2+} +Гис ..	33
Заключение	34
Список использованных источников	35

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 39 страниц, 6 рисунков, 61 источников.

РОСТ КОРНЯ, ЗКГ, АБИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС, НИКЕЛЬ, ГИСТИДИН, ПОДСОЛНЕЧНИК, ГОРОХ.

Изучение механизмов устойчивости растений к повреждающему действию абиотических факторов является одной из фундаментальных проблем биологии. Ее решение имеет принципиальное значение для понимания стратегии выживания растений в экстремальных условиях, таких как повышенные уровни тяжелых металлов в среде. Особенно актуальным представляется анализ токсического действия никеля, так как он чрезвычайно широко используется в промышленности. Для важнейших культур – подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) и гороха (*Pisum sativum* L.) первичные реакции на никелевый стресс практически не изучены, в частности не до конца понятен механизм индукции запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ). Детальное понимание молекулярных механизмов ЗКГ лежит в основе развития фундаментальных представлений о физиологии многоклеточных растений и необходимо при создании средств контроля процессов роста и развития растений, стимуляции их продуктивности и стрессоустойчивости.

Цель настоящей работы – выявить особенности развития симптомов запрограммированной клеточной гибели, индуцированной абиотическими стресс-факторами, в клетках корня подсолнечника и гороха.

В качестве объектов исследования были использованы корни *Helianthus annuus* L. сорта Orion и корни *Pisum sativum* L. сорта Пелюшка.

В работе применялись следующие методики: ростовые тесты рулонным методом, световая и эпифлуоресцентная микроскопия, анализ морфологических симптомов ЗКГ.

Было показано, что введение Ni^{2+} -содержащих растворов в среду выращивания ингибирует рост главного корня и индуцирует симптомы ЗКГ в корневых волосках *H. annuus* и *P. Sativum*. Введение гистидина в среду выращивания снижает токсическое действие Ni^{2+} на корни подсолнечника, даже при летальной концентрации Ni^{2+} (10 ммоль/л) на фоне гистидина наблюдалось прорастание семян, а доля клеток корня с ЗКГ морфологией была на уровне контроля. Это свидетельствует о важной роли гистидина как протектора при никелевом стрессе. Горох демонстрировал большую устойчивость к Ni^{2+} по сравнению с подсолнечником, при этом добавление гистидина оказывало лишь небольшое протекторное действия на рост корневой системы на фоне 3 и 10 ммоль/л Ni^{2+} , однако эффективно снижало количество трихобластов с морфологическими симптомами ЗКГ.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 39 старонак, 6 малюнкаў, 61 крыніца.

РОСТ КОРАНЯ, ЗКГ, АБІЯТЫЧНЫ СТРЕС, НІКЕЛЬ, ГІСЦІДЗІН, СЛАНЕЧНІК, ГАРОХ.

Даследаванне механізмаў устойлівасці раслін да пашкоджальнага дзеяння абіятычных фактараў з'яўляецца адной з фундаментальных праблем біялогіі. Яе рашэнне мае прынцыповае значэнне для разумення стратэгіі выжывання раслін у экстрэмальных умовах, такіх як павышаныя ўзроўні цяжкіх металаў у асяроддзі. Асабліва актуальна прадстаўлены аналіз таксічнага дзеяння нікеля, так як ён надзвычай шырока выкарыстоўваецца ў прамысловасці. Для найважнейшых культур – сланечніка (*Helianthus annuus* L.) і гароха (*Pisum sativum* L.) першасныя рэакцыі на нікелевы стрэс практычна не вывучаны, у прыватнасці не да канца зразумелы механізм індукцыі запраграмаванай клетачнай гібелі (ЗКГ). Дэталёвае разуменне малекулярных механізмаў ЗКГ ляжыць у аснове развіцця фундаментальных уяўленняў пра фізіялогію мнагаклетачных раслін і неабходна пры стварэнні сродкаў кантролю працэсаў росту і развіцця раслін, стымуляцыі іх прадуктыўнасці і стрэсаўстойлівасці.

Мэта сапраўднай работы – выявіць асаблівасці развіцця сімптомаў запраграмаванай клетачнай гібелі, індукцыраванай абіятычнымі стрэс-фактарамі, у клетках кораня сланечніка і гароха.

У якасці аб'ектаў даследавання былі выкарыстаны карані *Helianthus annuus* L. сорту Orion і карані *Pisum sativum* L. сорту Пелюшка.

У рабоце выкарыстоўваліся наступныя метадыкі: роставыя тэсты рулонным метадам, светавая і эпифлуарэсцэнтная мікраскапія, аналіз марфалагічных сімптомаў ЗКГ. Было паказана, што ўвядзенне Ni^{2+} -утрымліваючых раствораў у вырошчвальнае асяроддзе інгібіруе ўзрост галоўнага кораня і індукіруе сімптомы ЗКГ у карневых валасках *H. annuus* і *P. Sativum*. Увядзенне гісцідзіна ў вырошчвальнае асяроддзе зніжае таксічнае дзеянне Ni^{2+} на карані сланечніка, нават пры смяротнай канцэнтрацыі Ni^{2+} (10 ммоль/л) на фоне гісцідзіна назіралася прарастанне насення, а доля клетак кораня з ЗКГ марфалогіяй была на адным узроўні з кантролем. Гэта сведчыць пра важную ролю гісцідзіна як пратэктара пры нікелевым стрэсе. Гарох дэманстраваў высокую ўстойлівасць да Ni^{2+} у параўнанні з сланечнікам, пры гэтым дабаўленне гісцідзіна аказвала толькі невялікае пратэктарнае дзеянне на рост караневай сістэмы на фоне 3 і 10 ммоль/л Ni^{2+} , аднак эфектыўна зніжала колькасць трыхабластаў з марфалагічнымі сімптомамі ЗКГ.

ABSTRACT

Thesis 39 pages, 6 figures, 61 sources.

Root growth, PCD, ABIOTIC STRESS, NICKEL, HISTIDINE, SUNFLOWER, PEA.

One of the fundamental problems of Biology is to study the mechanisms of plant resistance to abiotic stress factors. Studying the mechanisms of plant resistance to the damaging effects of abiotic factors is one of the fundamental problems of biology. Its solution is of fundamental importance for understanding the survival strategy of plants in extreme conditions, such as elevated levels of heavy metals in the environment. Especially relevant is the analysis of the toxic effect of Nickel, since it is extremely widely used in industry. For the most important crops-sunflower (sunflower L. the primary reactions to Nickel stress have not been studied, in particular, the mechanism of induction of programmed cell death (PCD) is not fully understood. A detailed understanding of the molecular mechanisms of PCD is the basis for the development of fundamental concepts about the physiology of multicellular plants and is necessary for creating tools for controlling the processes of plant growth and development, stimulating their productivity and stress resistance.

The purpose of this work is to identify the features of the development of symptoms of programmed cell death induced by abiotic stress factors in sunflower and pea root cells. The roots of *Helianthus annuus* L. of the Orion variety and the roots of *Pisum sativum* L. of the Pelyushka variety were used as objects of research.

The following methods were used in the work: growth tests by the roll method, light and epifluorescence microscopy, analysis of morphological symptoms of PCD.

It has been shown that the introduction of Ni^{2+} and-containing solutions into the growing medium inhibits the growth of the main root and induces symptoms of PCD in the root hairs of *H. annuus* and in *P. sativum*. Introduction of histidine into the growing medium reduces the toxic effect of Ni^{2+} and on sunflower roots, even at a lethal concentration of Ni^{2+} and+ (10 mmol/l), seed germination was observed against the background of histidine, and the proportion of cells with the root morphology of PCD was at the control level. This indicates the important role of histidine as a protector in Nickel stress. Peas showed greater resistance to Ni^{2+} and compared to sunflower, while the addition of histidine had only a small protective effect on the growth of the root system against the background of 3 and 10 mmol/l of Ni^{2+} and, but effectively reduced the number of trichoblasts with morphological symptoms of PCD.