

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

КАСПЕРОВИЧ
Екатерина Сергеевна

**ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОРОВ НА СТАБИЛЬНОСТЬ
ДНК В КЛЕТКАХ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
д.б.н., профессор В.В. Демидчик

Допущена к защите
«___» _____ 2020 г.
Зав. кафедрой клеточной биологии и
биоинженерии растений
к.б.н., доцент И.И. Смолич

Минск, 2020

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 67 с., 14 рис., 94 источников.

МОХООБРАЗНЫЕ, *PHYSCOMITRELLA PATENS*,
ПОКРЫТОСЕМЕННЫЕ, *ARABIDOPSIS THALIANA*, АБИОТИЧЕСКИЙ
СТРЕСС, ЗАСОЛЕНИЕ, ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ, ХЛОРИД НАТРИЯ, НИКЕЛЬ,
СТАБИЛЬНОСТЬ ДНК.

Целью данной работы являлось изучение воздействия различных концентраций NaCl и ионов тяжелых металлов (на примере никеля) на стабильность ДНК в клетках *Physcomitrella patens* и *Arabidopsis thaliana*.

Основными методами были: метод ДНК-комет и флуоресцентная микроскопия.

В ходе работы были получены данные о повреждениях ДНК в клетках модельных растений *P. patens* и *A. thaliana* при засолении и действии ионов тяжелых металлов. В работе с использованием модельного организма – мха *P. patens* было установлено, что воздействие 100-300 мМ NaCl приводит к образованию двухцепочечных разрывов ДНК. При этом наблюдается увеличение количества двухцепочечных разрывов с ростом концентрации NaCl. В случае двудольного модельного растительного организма *A. thaliana* было выявлено, что воздействие NaCl в течение 180 минут индуцирует одно- и двухцепочечные разрывы ДНК, достоверные отличия наблюдаются только при действии 300 мМ NaCl. Повреждения ДНК в клетках *P. patens* и *A. thaliana*, вызываемые воздействием высокой (300 мМ) концентрации NaCl свидетельствуют о возможном генотоксическом эффекте солевого стресса у высших растений. Также было установлено, что введение в среду 1-10 мМ NiCl₂ в течение 180 мин не вызывает существенного генотоксического эффекта как у *P. patens*, так и у *A. thaliana*. Вероятно, это связано с недостаточной дозой Ni²⁺ и невысоким уровнем генотоксического влияния данного металла у высших растений.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 67 с., 14 мал., 94 крыніц.

МОХАПАДОБНЫЯ, *PHYSCOMITRELLA* *PATENS*,
ПАКРЫТАНАСЕННЫЯ, *ARABIDOPSIS THALIANA*, АБІЯТЫЧНЫ СТРЭС,
ЗАСАЛЕННЕ, ЦЯЖКІЯ МЕТАЛЫ, ХЛАРЫД НАТРЫЮ, НІКЕЛЬ,
СТАБІЛЬНАСЦЬ ДНК.

Мэтай дадзенай работы з'яўлялася вывучэнне ўздзеяння розных канцэнтрацый NaCl і іёнаў цяжкіх металаў (на прыкладзе нікелю) на стабільнасць ДНК у клетках *Physcomitrella patens* і *Arabidopsis thaliana*.

Асноўнымі метадамі былі: метады ДНК-камет і флуарэсцэнтная мікраскапія.

У ходзе работы былі атрыманыя вынікі аб пашкоджаннях ДНК у клетках мадэльных раслін *P. patens* і *A. thaliana* пры засаленні і ўздзеянні іёнаў цяжкіх металаў. У рабоце з выкарыстаннем мадэльнага арганізма – імху *P. patens* было высветлена, што ўздзеянне 100 – 300 мМ NaCl прыводзіць да ўтварэння двухланцуговых разываў ДНК. Пры гэтым назіраецца павелічэнне колькасці двухланцуговых разываў з павелічэннем канцэнтрацыі NaCl. У выпадку з двудольным мадэльным арганізмам *A. thaliana* было высветлена, што ўздзеянне NaCl індцыруе адна- і двухланцуговыя разрывы ДНК, дакладныя адрозненні назіраюцца толькі пры ўздзеянні 300 мМ NaCl. Пашкоджані ДНК у клетках *P. patens* і *A. thaliana*, якія выклікаюцца ўздзеяннем высокай (300 мМ) канцэнтрацыі NaCl сведчаць аб магчымым генатаксічным эфекце салявога стрэсу ў вышэйшых раслін, што раней не адзначалася ў літаратурных крыніцах. Таксама было выяўлена, што ўвядзенне ў асяроддзе 1-10 мМ NiCl₂ не выклікае значнага генатаксічнага эфекту як у *P. patens*, так і ў *A. thaliana*. Верагодна, гэта звязана з недахопам дозы Ni²⁺ і з невялікім узроўнем генатаксічнага эфекту дадзенага металу ў адносінах да вышэйшых раслін.

ABSTRACT

Thesis 67 p., 14 pic., 94 sources.

BRYOPHYTE, *PHYSCOMITRELLA PATENS*, ANGIOSPERMS, *ARABIDOPSIS THALIANA*, ABIOTIC STRESS, SALINITY STRESS, HEAVY METALS, SODIUM CHLORIDE, NICKEL, DNA STABILITY.

The aim of this work was to examine the effect various concentrations of NaCl and heavy metal ions (for example, nickel) on the DNA stability in *Physcomitrella patens* and *Arabidopsis thaliana* cells.

The methods such as comet assay and fluorescence microscopy were applied.

Current study showed the DNA damage in the cells of model plants *P. patens* and *A. thaliana* due to salinization and the impact of heavy metal ions. The investigation of a moss *P. patens* showed that 100-300 mM NaCl lead not only to the formation of double-stranded DNA breaks but also to the increase in the number of double-stranded breaks with the growing NaCl concentration. Thorough investigation of arabidopsis (*A. thaliana*) proved the impact of NaCl for 180 minutes to induce single and double stranded DNA breaks starting from a NaCl level of 300 mM.

The obtained results of this study have indicated that DNA damages in *P. patens* and *A. thaliana* cells caused by high (300 mM) NaCl concentration signify the possible genotoxic effect of salt stress on higher plants, which was not observed in the literature before. The examination has also revealed that adding 1-10 mM NiCl₂ does not take significant genotoxic effect on both *P. patens* and *A. thaliana*. This is probably due to the insufficient dose of Ni²⁺ and low level of genotoxic effect of this metal on higher plants.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	Ошибка! Закладка не определена.
ВВЕДЕНИЕ	Ошибка! Закладка не определена.
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	Ошибка! Закладка не определена.
1.1 Проблема засоления, механизмы токсического влияния NaCl и солеустойчивости высших растений.....	Ошибка! Закладка не определена.
1.1.1 Экологические группы растений по отношению к засолению .	Ошибка! Закладка не определена.
1.1.2 Механизмы приспособления растений к условиям засоления .	Ошибка! Закладка не определена.
1.1.3 Адаптация мхов к засолению	Ошибка! Закладка не определена.
1.1.4 Компоненты солевого сигнала у <i>P. patens</i> и его регуляция.....	Ошибка! Закладка не определена.
1.1.5 Модуляция ионного и осмотического гомеостаза	Ошибка! Закладка не определена.
1.2. Проблема накопления ионов тяжелых металлов в почве, механизмы токсического действия ионов тяжелых металлов и устойчивость растений	Ошибка! Закладка не определена.
1.2.1. Способ действия тяжелых металлов	Ошибка! Закладка не определена.
1.2.2 Стресс, вызванный действием тяжелых металлов и реакция растений	Ошибка! Закладка не определена.
1.2.3. Молекулярные механизмы устойчивости тяжелых металлов в растениях	Ошибка! Закладка не определена.
1.2.3.1. Ограничение поступления и распределения ионов тяжелых металлов в тканях и клетках растений	Ошибка! Закладка не определена.
1.2.3.2. Формирование соединений, инактивирующих действие ТМ	Ошибка! Закладка не определена.

- 1.2.3.3. Опосредованные механизмы инактивации ионов тяжелых металлов в тканях и клетках растений **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.2.4. Образование активных форм кислорода в клетках растений .. **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.3 *Physcomitrella patens* (Hedw.) Bruch & Schimp **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.3.1 Ботаническая характеристика **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.3.2 *Physcomitrella patens* в эволюции растений **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.3.3 *Physcomitrella patens* в качестве модельного растения **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.3.4 Культивирование *Physcomitrella patens* **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.4 *Arabidopsis thaliana* L. Heynh. **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.4.1 Ботаническая характеристика **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.4.2 *Arabidopsis thaliana* в эволюции растений **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.4.3 *Arabidopsis thaliana* в качестве модельного растения **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.4.4 Культивирование *Arabidopsis thaliana* **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.5 Метод ДНК-комет **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.5.1 Разработка метода **Ошибка! Закладка не определена.**
- 1.5.2 Область применения **Ошибка! Закладка не определена.**
- ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ **Ошибка! Закладка не определена.**
- 2.1 Объект исследования **Ошибка! Закладка не определена.**
- 2.2 Культивирование хлоронемы мха *Physcomitrella patens* **Ошибка! Закладка не определена.**
- 2.3 Культивирование *Arabidopsis thaliana* . **Ошибка! Закладка не определена.**
- 2.4 Определение одно- и двухцепочечных разрывов ДНК... **Ошибка! Закладка не определена.**

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ **Ошибка! Закладка не определена.**

3.1 Культивирование *Physcomitrella patens* **Ошибка! Закладка не определена.**

3.2 Культивирование *Arabidopsis thaliana* . **Ошибка! Закладка не определена.**

3.3 Измерение повреждений ДНК в клетках *A. thaliana* и *P. patens* при солевом стрессе **Ошибка! Закладка не определена.**

3.4 Определение повреждений ДНК в клетках *A. thaliana* и *P. patens* при стрессе, вызванном действием никеля **Ошибка! Закладка не определена.**

ЗАКЛЮЧЕНИЕ **Ошибка! Закладка не определена.**

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ **Ошибка! Закладка не определена.**

