

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**Кафедра клеточной биологии и биоинженерии растений**

**КАЛИНИНА**  
Мария Андреевна

**ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОРОВ НА  
ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ  
*RHALAENOPSIS* × *HYBRIDUM* BLUME**

Аннотация дипломной работы

Научный руководитель:  
старший преподаватель  
М. А. Черныш

Допущена к защите  
«\_\_»\_\_\_\_\_2020 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений  
кандидат биологических наук, доцент И. И. Смолич

Минск, 2020

# ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ                                   | 4  |
| РЕФЕРАТ                                                         | 5  |
| ВВЕДЕНИЕ                                                        | 8  |
| ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ                                        | 10 |
| 1.1 Общая характеристика орхидных                               | 10 |
| 1.1.1 Важнейшие биологические характеристики орхидных           | 12 |
| 1.1.2 Морфологические особенности строения протокормов          | 15 |
| 1.2 Требования к свету и адаптация у орхидей                    | 18 |
| 1.3 Адаптация орхидей к экстремальным температурам              | 20 |
| 1.3.1 Реакция и адаптация к низкой температуре                  | 21 |
| 1.3.2 Реакция и адаптация к высокой температуре                 | 22 |
| 1.4 Отношение к воде у орхидных                                 | 23 |
| 1.4.1 Быстрое поглощение воды                                   | 24 |
| 1.4.2 Хранение воды                                             | 24 |
| 1.4.3 Уменьшение потери воды                                    | 25 |
| 1.5 Питательные вещества орхидей                                | 26 |
| 1.5.1 Поглощение и использование питательных веществ            | 26 |
| 1.5.2 Микоризные питательные вещества орхидей                   | 28 |
| 1.6 Влияние засоления на рост растений                          | 30 |
| 1.7 Анализ жизнеспособности растений                            | 31 |
| 1.7.1 Методика изготовления временных микропрепаратов           | 34 |
| растительных тканей                                             |    |
| 1.7.2 Флуоресцентная микроскопия                                | 35 |
| ГЛАВА 2 ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ                            | 37 |
| 2.1 Объект исследования                                         | 37 |
| 2.2 Разработка методики анализа жизнеспособности клеток         | 37 |
| мезофилла листа <i>Phalaenopsis</i>                             |    |
| 2.3 Определение влияния солевого и осмотического стресса на     | 39 |
| жизнеспособность клеток мезофилла листа орхидных                |    |
| 2.4 Определение жизнеспособности клеток протокормов при помощи  | 39 |
| флуоресцентного зонда дигидроэтидиум под действием абиотических |    |
| стрессоров                                                      |    |
| 2.5 Красители, используемые в проведении теста на               | 40 |
| жизнеспособность клеток мезофилла листа орхидных                |    |
| 2.6 Статистическая обработка данных                             | 42 |

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ                                                                                                                    | 43 |
| 3.1 Адаптация методики проведения анализа на жизнеспособность клеток мезофилла листа взрослого растения <i>Phalaenopsis</i> × <i>hybridum</i> Blume | 43 |
| 3.2 Тест на жизнеспособность клеток мезофилла листа <i>Phalaenopsis</i> с помощью флуоресцентного красителя ФДА                                     | 47 |
| 3.3 Измерение генерации АФК под действием механического стресса в присутствии антиоксидантов при помощи флуоресцентного зонда дигидроэтидиум        | 51 |
| 3.4 Воздействие осмотического стресса на генерацию АФК                                                                                              | 54 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ                                                                                                                                          | 56 |
| СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ                                                                                                                      | 57 |

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

|      |                                 |
|------|---------------------------------|
| АМП  | Апикальная меристема побега     |
| АФК  | Активные формы кислорода        |
| ДГЭ  | Дигидроэтидиум                  |
| ДМСО | Диметилсульфоксид               |
| ППТ  | Протокормоподобные тела         |
| ПЭГ  | Полиэтиленгликоль               |
| СОД  | Супероксиддисмутаза             |
| ТТХ  | 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид |
| ФДА  | Флуоресцеин диацетат            |
| ЭС   | Эванс синий                     |

## РЕФЕРАТ

Дипломная работа 60 с., 13 рис., 2 табл., 48 источников.

### ВОЗДЕЙСТВИЕ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОРОВ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК РАЗЛИЧНЫХ ТКАНЕЙ *PHALAENOPSIS* × *HYBRIDUM* BLUME

Целью работы являлось провести анализ жизнеспособности клеток мезофилла листа и эпидермальных волосков протокормов *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume под действием различных абиотических стрессоров.

Объектом исследования в данной работе выступали протокормы, выращенные в условиях *in vitro* и лист взрослого растения *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume.

Методы исследования: светлопольная микроскопия, флуоресцентная микроскопия с использованием флуоресцентных зондов: флуоресцеин диацетата, Эванс синего и дигидроэтидиума с фильтром FITC, статистический анализ данных.

Установлено, что использование флуоресцентного зонда флуоресцеин диацетат в совокупности с фильтром FITC позволяет получить детектируемый сигнал в клетках мезофилла листа взрослого растения *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume, что свидетельствует о возможности использования данной экспериментальной системы в исследованиях влияния абиотического стресса Орхидных.

Полученные результаты показали, что использование флуоресцентного зонда дигидроэтидиум совместно с фильтром FITC позволяет получить детектируемый сигнал, опосредованный АФК, в корневых волосках *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume, что свидетельствует о возможности использования данной системы для измерения АФК у Орхидных.

## РЭФЕРАТ

Дыпломная работа 60 с., 13 мал., 2 табл., 48 крыніц.

УПЛЫЎ АБІЯТЫЧНЫХ СТРЭСАРАЎ НА ЖЫЦЦЯЗДОЛЬНАСЦЬ КЛЕТАК РОЗНЫХ ТКАНАК *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume.

Мэтай работы з'яўлялася правесці аналіз жыццяздольнасці клетак мезафіла ліста і эпідэर्मальных валасінак пратакормаў *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume пад уздзеяннем розных абіятычных стрэсараў.

Аб'ектам даследавання ў дадзенай рабоце з'яўляліся пратакормы, выгадаваныя ва ўмовах *in vitro* і ліст дарослай расліны *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume.

Метады даследавання: святлапольная мікраскапія, флуарэсцэнтная мікраскапія з выкарыстаннем флуарэсцэнтных зондаў: флуарэсцэін дыацетат, Эванс сіні і дыгідраэтыдыум з фільтрам FITC, статыстычны аналіз даных.

Устаноўлена, што выкарыстанне флуарэсцэнтнага зонда флуарэсцэін дыацетат у сукупнасці з фільтрам FITC дазваляе атрымаць сігнал у клетках мезафіла ліста дарослай расліны *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume, што сведчыць аб магчымасці выкарыстання дадзенай эксперыментальнай сістэмы ў даследаваннях уплыву абіятычнага стрэсу Архідных.

Атрыманыя вынікі паказалі, што выкарыстанне флуарэсцэнтнага зонда дыгідраэтыдыум у сукупнасці з фільтрам FITC дазваляе атрымаць сігнал, апасродкаваны АФК, у каранёвых валасінках *Phalaenopsis* × *hybridum* Blume, што сведчыць аб магчымасці выкарыстання дадзенай сістэмы для вымярэння АФК у Архідных.

## ABSTRACT

Graduate work 60 p., 13 pict., 2 tabl., 48 references.

### INFLUENCE OF ABIOTIC STRESSES ON THE VIABILITY OF CELLS OF VARIOUS TISSUES *PHALAEOPSIS* × HYBRIDUM BLUME

The aim of the work was to analyze the viability of leaf mesophyll cells and protocorm epidermal hairs of the *Phalaenopsis* × hybridum Blume under the influence of various abiotic stressors.

The object of the study in this work were grown *in vitro* protocorms and the leaf of the adult plant *Phalaenopsis* × hybridum Blume.

Methods of research: light-field microscopy, fluorescence microscopy using a fluorescent probe: fluorescein diacetate, Evans blue and dihydroethidium with FITC filter, statistical data analysis.

It has been established that the use of a fluorescent probe fluorescein diacetate in combination with a FITC filter makes it possible to obtain a detectable signal in the mesophyll cells of the leaf of the adult plant *Phalaenopsis* × hybridum Blume, which indicates the possibility of using this experimental system in studies of the influence of Orchid abiotic stress.

The results obtained showed that the use of the fluorescence probe dihydroethidium together with the FITC filter allows one to obtain a detectable ROS mediated signal in the root hairs of *Phalaenopsis* × hybridum Blume, which indicates the possibility of using this system for measuring ROS in Orchids.