

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

ГУЗАРЕВИЧ
Кристина Вячеславовна

**ВЛИЯНИЕ pH СРЕДЫ И ОБЕСПЕЧЕННОСТИ БОРОМ НА УРОВЕНЬ
ЭКСПРЕССИИ K⁺-КАНАЛА GORK ПРИ АЛЮМИНИЕВОМ СТРЕССЕ**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
декан биологического факультета,
член-корр. НАН Беларуси, д.б.н.,
В.В. Демидчик

Допущена к защите
«___»_____2022г.

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

Минск, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений.....	4
Реферат.....	5
Введение.....	8
Глава 1. Обзор литературы.....	11
1.1 Биохимические формы алюминия в водных растворах почвы и их зависимость от pH среды.....	11
1.2 Распространённость нерастворимых и ионных форм Al в земной коре и биосфере.....	14
1.3 Механизмы токсичности Al. Модификация физиологических процессов у высших растений под действием повышенных уровней алюминия в среде.....	15
1.3.1 Воздействие токсических форм Al на рост и развитие растений....	15
1.3.2 Влияние на фотосинтез и дыхание.....	16
1.3.3 Воздействие Al на ион-транспортные системы мембран клеток растений.....	19
1.3.4 Влияние алюминия на субклеточном уровне (на органеллы).....	21
1.4 Молекулярные механизмы толерантности растений к алюминию.....	24
1.5 Влияние бора на растения при алюминиевом стрессе.....	33
1.5.1 Физиологические и биохимические свойства бора.....	33
1.5.2 Биологическое значение бора. Признаки избытка и недостатка бора в растениях.....	37
1.5.3 Молекулярные механизмы толерантности растений с помощью бора при алюминиевом стрессе.....	38
Глава 2. Материалы и методы исследования.....	42
2.1 Объект исследования	42
2.2 Техника ростовых тестов с добавлением раствора алюминия различной концентрации.....	43
2.3 Выделение РНК	44
2.4 Синтез кДНК	45
2.5 Проведение ПЦР-анализа.....	46
2.6 Постановка ПЦР в реальном времени.....	46
2.7 Статистическая обработка данных.....	48
Глава 3. Результаты и их обсуждение.....	50

3.1 Изменение ростовых показателей корней арабидопсиса при добавлении растворов алюминия различной концентрации на кончики корней.....	50
3.2 Анализ РНК.....	53
3.3 Результаты ПЦР-анализа.....	56
Заключение.....	61
Список использованной литературы.....	62

РЕФЕРАТ

Дипломная работа составляет 67 страницы, 16 рисунков, 7 таблицы, 76 источников литературы.

K⁺-КАНАЛ GORK, БОР, АЛЮМИНИЙ, РОСТОВЫЕ ТЕСТЫ, ПЦР, КОРЕНЬ.

В работе использовались корни 5-10-дневных проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. экотипа Wassilevskija (WS-0) и линия *gork1-1*, у которой отсутствует ген, кодирующий наружу-выпрямляющий K⁺-канал GORK.

Цель данной работы – выявить закономерности воздействия алюминия и обеспеченности бором на рост корней проростков *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. дикого типа и с модифицированной структурой K⁺-канала GORK.

Методы исследования: культивирование проростков арабидопсиса в вертикальной культуре на гелевой среде; техника ростового теста с добавлением различных концентраций стресс-фактора на корни проростков; методы выделения РНК, синтеза кДНК, ПЦР и ОТ-ПЦР.

В низкой концентрации (0,1 мМ) Al³⁺ не влиял на рост корней *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., тогда как более высокие уровни Al³⁺ вызывали ингибирующий эффект (усиливающийся с возрастанием концентрации Al³⁺). Растения-нокауты *gork1-1*, у которых отсутствует ген, кодирующий наружу-выпрямляющий K⁺-канал, демонстрировали большую устойчивость к Al³⁺. Дефицит бора приводил к повышению чувствительности растений *Arabidopsis thaliana* к Al³⁺, что выражалось в более сильном снижении скорости роста основного корня по сравнению с растениями, выращенными при нормальной обеспеченности бором. Экспрессия гена GORK усиливалась на фоне низких pH и введении в среду Al³⁺ при нормальной обеспеченности бором, однако при дефиците бора данной реакции не наблюдалось. Можно предположить, что выход калия при стрессе через канал GORK является важной адаптивной реакцией при алюминиевом стрессе, а B способен регулировать механизмы, поддерживающие нормальную экспрессию данного ионного канала.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа складае 67 старонкі, 16 малюнкаў, 7 табліцы, 76 крыніц літаратуры.

K⁺-КАНАЛ GORK, БОР, АЛЮМІНІЙ, РАСТАВЫЯ ТЭСТЫ, ПЦР, КОРАНЬ.

У ходзе даследавання выкарыстоўваліся карані 5-10-дзённых праросткаў *Arabidopsis thaliana* (L.) Нейнх.экатіпа Wassilevskija (WS-0) і лінія *gork1-1* (адсутнічае ген, што кадуе вонкі-выпроставаючы K⁺-канал).

Мэта дадзенай працы – выявіць заканамернасці ўздзеяння алюмінію і забяспечанасць бора на рост каранёў праросткаў *Arabidopsis thaliana* (L.) Нейнх. дыкага тыпу і з мадыфікаванай структурай K⁺-канала GORK.

Метады даследавання: культываванне праросткаў арабидопсису ў вертыкальнай культуры на гелевым асяроддзі; тэхніка раставага тэсту з даданнем розных канцэнтрацый стрэс-фактару на карані праросткаў; метады выдзялення РНК, сінтэзу кДНК, ПЦР і АД-ПЦР.

У нізкай канцэнтрацыі (0,1 мМ) Al³⁺ не ўплываў на рост каранёў *Arabidopsis thaliana* (L.) Нейнх., тады як больш высокія ўзроўні Al³⁺ выклікалі інгібіруе эффект (які ўзмацняецца з узростаннем канцэнтрацыі Al³⁺). Расліны-накаўты *gork1-1*, у якіх адсутнічае ген, які кадуе вонкі-выпроствальны K⁺-канал, дэманстравалі вялікую ўстойлівасць да Al³⁺. Дэфіцыт бору прыводзіў да павышэння адчувальнасці раслін *Arabidopsis thaliana* да Al³⁺, што выяўлялася ў мацнейшым зніжэнні хуткасці росту асноўнага кораня ў параўнанні з раслінамі, вырашчанымі пры звычайнай забяспечанасці бора. Экспрэсія гена GORK ўзмацнялася на фоне нізкіх pH і ўвядзенні ў сераду Al³⁺ пры нармальнай забяспечанасці бора, аднак пры дэфіцыце бора дадзенай рэакцыі не назіралася. Можна выказаць здагадку, што вынахад калія пры стрэсе праз канал GORK з'яўляецца важнай адаптыўнай рэакцыяй пры алюмініевым стрэсе, а В здольны рэгуляваць механізмы, якія падтрымліваюць звычайную экспрэсію дадзенага іённага канала.

ABSTRACT

The thesis consists of 67 pages, 16 figures, 7 tables, 76 sources of literature.

K⁺-CHANNEL GORK, BOR, ALUMINIUM, GROWTH TESTS, PCR, ROOT.

The object used in the study is the roots of 5-7-day-old seedlings of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. ecotypes Wassilevskija (WS-0) and line *gork1-1* (lacking gene encoding outward-rectifying K⁺-channel GORK).

The purpose of the work is to reveal mechanism of the aluminum influence and boron availability on roots growth of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. of wild type and with the modified structure of the K⁺-channel GORK.

Research methods are: cultivation of *Arabidopsis* seedlings in vertical culture on a gel medium; growth test technique with addition of various stress-factor concentrations on the seedlings roots; RNA isolation, cDNA synthesis, PCR and RT-PCR analysis.

At a low concentration (0.1 mM), Al³⁺ did not affect the root growth of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., while higher levels of Al³⁺ caused an inhibitory effect (increasing with increasing Al³⁺ concentration). *Gork1-1* knockout plants lacking the gene encoding the outward-rectifying K⁺ channel showed greater resistance to Al³⁺. Boron deficiency led to an increase in the sensitivity of *Arabidopsis thaliana* plants to Al³⁺, which was expressed in a stronger decrease in the growth rate of the main root compared to plants grown under normal boron supply. The expression of the GORK gene increased at a background of low pH and the introduction of Al³⁺ into the medium at a normal supply of boron; however, this reaction was not observed at a boron deficiency. It can be assumed that the release of potassium during stress through the GORK channel is an important adaptive response during aluminum stress, and B is able to regulate the mechanisms that maintain the normal expression of this ion channel.