

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

РЕКИШ
Александра Леонидовна

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КЛЕТОК КОРНЯ
ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В ОТВЕТ НА ПОВЫШЕННЫЕ УРОВНИ Ni²⁺ В
СРЕДЕ

Аннотация к дипломной работе

Научный руководитель:
Старший преподаватель
В.С. Мацкевич

Допущен к защите

«__»_____2022 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений,

кандидат биологических наук, доцент

_____И.И. Смолич

Минск, 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	4
Реферат	5
Рэфэрат.....	6
Abstract.....	7
Введение	8
Глава 1 Влияние тяжелого металла Ni на растения.....	10
1.1 Экология и распространение Ni	11
1.2 Токсическое действие никеля на растения	11
1.2.1 Влияние Ni ²⁺ на рост растений	11
1.2.2 Изменение морфологии растений под действием никеля	12
1.2.3 Торможение фотосинтеза при воздействии повышенных уровней Ni ²⁺	12
1.2.4 Влияние Ni ²⁺ на минеральное питание.....	13
1.2.5 Эффект никеля на активность ферментов.....	13
1.2.6 Индукция окислительного стресса в клетках растений в ответ на Ni ²⁺	14
1.2.7 Поддержание водного баланса при никелевом стрессе	15
1.2.8 Влияние никеля на урожайность	15
1.3 Модификация экспрессии генов у растений при воздействии Ni ²⁺	15
Глава 2 Материалы и методы	18
2.1 Объекты исследования.....	18
2.2 Культивирование растений <i>Arabidopsis thaliana</i> в стерильных условиях..	19
2.3 Культивирование растений <i>Arabidopsis thaliana</i> в условиях гидропоники	20
2.4 Выращивание семян <i>Triticum aestivum</i> рулонным методом.....	21
2.5 Тест на жизнеспособность клеток корня	22
2.6 Обнаружение двуцепочечных разрывов ДНК	23
2.7 Статистическая обработка данных.....	23
Глава 3 Результаты и их обсуждение	25
3.1 Результаты экспериментов с <i>Arabidopsis thaliana</i>	25
3.1.1 Эффект никеля на рост корней модельного объекта <i>Arabidopsis thaliana</i>	25
3.1.2 Результаты теста на жизнеспособность клеток корня <i>Arabidopsis thaliana</i> при использовании красителя ЕВ	27
3.1.3 Индукция двойных разрывов цепей ДНК в клетках корней арабидопсиса при обработке никелем и комплексами Ni-гистидин	28
3.2 Результаты экспериментов с <i>Triticum aestivum</i>	29
3.2.1 Влияние никеля на рост корней <i>Triticum aestivum</i>	29

3.2.2 Результаты теста на жизнеспособность клеток корня <i>Triticum aestivum</i> с использованием Evans Blue	30
Список использованных источников	34

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 35 страницы, 12 рисунков, 2 таблицы, 19 источников.

Ключевые слова: НИКЕЛЬ, ГИСТИДИН, ТЯЖЕЛОМЕТАЛЛИЧЕСКИЙ СТРЕСС, *ARABIDOPSIS THALIANA*, *TRITICUM AESTIVUM*, КОРЕНЬ, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ КЛЕТОК, EVANS BLUE.

Целью работы являлось установить влияние повышенных уровней никеля на рост и жизнеспособность клеток корней высших растений.

В качестве объекта исследования использовались модельное растение *Arabidopsis thaliana* L. Heynh., а также важная сельскохозяйственная культура *Triticum aestivum* L.

В работе применялись следующие методы: ростовые тесты на стерильной гелевой среде, культивирование растений арабидопсиса в гидропонике, рулонный метод выращивания пшеницы, анализ жизнеспособности клеток корня при помощи флуоресцентной микроскопии с использованием красителя Evans Blue, метод обнаружения двуцепочечных разрывов ДНК – анализ ДНК комет.

В результате проведенных исследований было показано, что никель ингибировал рост корней арабидопсиса, начиная с концентрации 0,3 ммоль/л Ni^{2+} , как в тестах на стерильной гелевой среде, так и в гидропонике. Добавление гистидина оказывало протекторное действие, при этом наиболее высокая хелатирующая активность относительно Ni^{2+} проявлялась при соотношении никеля к гистидину, как 1 к 2. В результате 15-часовой обработки Ni^{2+} в клетках корней арабидопсиса возрастала интенсивность флуоресценции Evans Blue, а также увеличивалось образование двуцепочечных разрывов ДНК, что свидетельствует об индукции запрограммированной клеточной гибели. В присутствии гистидина пагубный эффект Ni^{2+} снижался в зрелой зоне корня и в кончике корня. Аналогичные данные были получены при исследовании реакции корней пшеницы озимой. Было показано, что скорость роста основного корня пшеницы снижалась в присутствии 0,03-10 ммоль/л Ni^{2+} , а при добавлении гистидина ингибирующий эффект тяжелого металла уменьшался, что особенно заметно при высоких уровнях Ni^{2+} . Также гистидин снижал никель-индуцированную клеточную гибель в кончиках корней пшеницы.

Работа имеет фундаментальное значение, так как раскрывает ранее неизвестные механизмы защиты растений от тяжелого металла никеля и его взаимодействий с хелатором гистидином. Полученные результаты также могут иметь практическое значение при выращивании сельскохозяйственных растений на загрязненных почвах.

РЭФЭРАТ

Дыпломная работа: 35 старонкі, 12 малюнкаў, 2 табліцы, 19 крыніц.

Ключавыя словы: НІКЕЛЬ, ГІСТЫДЫН, ЦЯЖКАМЕТАЛІЧНЫ СТРЭС, *ARABIDOPSIS THALIANA*, *TRITICUM AESTIVUM*, КОРАНЬ, ЖЫЦЦЯЗДОЛЬНАСЦЬ КЛЕТАК, EVANS BLUE.

Мэтай работы з'яўлялася ўстанавіць уплыў падвышаных узроўняў нікеля на рост і жыццяздольнасць клетак каранёў вышэйшых раслін.

У якасці аб'екта даследавання выкарыстоўваліся мадэльная расліна *Arabidopsis thaliana* L. Heynh., а таксама важная сельскагаспадарчая культура *Triticum aestivum* L.

У рабоце ўжываліся наступныя метады: роставыя тэсты на стэрыльным гелевым асяроддзі, культываванне раслін арабідопсіса ў гідрапоніцы, рулонны метады вырошчвання пшаніцы, аналіз жыццяздольнасці клетак караня пры дапамозе флуарэсцэнтнай мікраскапіі з выкарыстаннем фарбы Evans Blue, метады выяўлення двуланцуговага разрываў ДНК – аналіз ДНК камэт.

У выніку праведзеных даследаванняў было паказана, што нікель інгібіраваў рост каранёў арабідопсісу, пачынаючы з канцэнтрацыі 0,3 ммоль/л Ni^{2+} , як у тэстах на стэрыльным гелевым асяроддзі, так і ў гідрапоніцы. Даданне гістыдыну аказвала пратэктарнае дзеянне, пры гэтым найбольш высокая хелатыруючая актыўнасць адносна Ni^{2+} выяўляецца пры суадносінах нікеля да гістыдыну, як 1 да 2. У выніку 15-гадзіннага апрацоўкі Ni^{2+} у клетках каранёў арабідопсісу ўзрастае інтэнсіўнасць флуарэсцэнцыі Evans Blue, што сведчыць аб індукцыі запраграмаванай клеткавай гібелі. У прысутнасці гістыдыну згубны эффект Ni^{2+} зніжаўся ў сталай зоне караня і ў кончыку караня. Аналагічныя дадзеныя былі атрыманыя пры даследаванні рэакцыі каранёў пшаніцы азімай. Было паказана, што хуткасць росту асноўнага караня пшаніцы змянялася ў прысутнасці 0,03-10 ммоль/л Ni^{2+} , а пры даданні гістыдыну адмоўны эффект цяжкага металу памяншаўся, што асабліва прыкметна пры высокіх узроўнях Ni^{2+} . Таксама гістыдын зніжаў нікель-індукаваную клеткавую гібель у кончыках каранёў пшаніцы.

Работа мае фундаментальнае значэнне, бо раскрывае раней невядомыя механізмы абароны раслін ад цяжкага металу нікеля і яго ўзаемадзеянняў з хелатарам гістыдынам. Атрыманыя вынікі таксама могуць мець практычнае значэнне пры вырошчванні сельскагаспадарчых раслін на забруджаных глебах.

ABSTRACT

The graduation work: 35 pages, 12 figures, 2 tables, 19 sources.

Keywords: NICKEL, HISTIDINE, HEAVY METAL STRESS, *ARABIDOPSIS THALIANA*, *TRITICUM AESTIVUM*, ROOT, CELL VIABILITY, EVANS BLUE.

The aim of this work was to establish the effect of elevated levels of nickel on the growth and viability of root cells in higher plants.

The object of research: the model plant *Arabidopsis thaliana* L. Heynh., an important agricultural crop *Triticum aestivum* L.

The following methods were used in the work: growth tests on a sterile gel medium, cultivation of Arabidopsis plants in hydroponics, growing wheat using the paper roll method, analysis of the viability of root cells using fluorescence microscopy and Evans Blue dye, and detecting DNA double-strand breaks using Comet assay.

As a result of the studies performed, it was shown that nickel inhibited the growth of Arabidopsis roots, starting from a concentration of 0.3 mmol/l Ni²⁺, both in tests on a sterile gel medium and in hydroponics. The addition of histidine had a protective effect, while the highest chelating activity with respect to Ni²⁺ was manifested at a ratio of nickel to histidine as 1 to 2. As a result of the 15 h treatment with Ni²⁺ in Arabidopsis root cells, the Evans Blue fluorescence intensity increased, and the formation of DNA double-strand breaks also increased, which indicates the induction of programmed cell death. In the presence of histidine, the inhibition effect of Ni²⁺ decreased in the mature root zone and in the root tip. Similar data were obtained in the study of the reaction of winter wheat roots. It was shown that the growth rate of the main root of wheat was reduced in the presence of 0.03-10 mmol/l Ni²⁺, and with the addition of histidine, the inhibitory effect of the heavy metal is reduced, which is especially noticeable at high levels of Ni²⁺. Histidine also reduced nickel-induced cell death in wheat root tips.

The work is of fundamental importance, as it reveals previously unknown mechanisms of plant defense against the heavy metal nickel and its interactions with the chelator histidine. The results obtained can also be of practical importance for growing agricultural plants on contaminated soils.