

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики

ГОРДЕЙКО
Виталия Витальевна

**ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ
NICOTIANA TABACUM ЛИНИЯ 10.38, НЕСУЩИХ
БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ACDS-ГЕН К ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ
ВЫСОКИМИ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ НИКЕЛЯ**

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Е. А. Храмцова

Минск, 2022

РЕФЕРАТ

Дипломная работа 54 стр., 18 рис., 8 табл., 36 источников.

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *NICOTIANA TABACUM* ЛИНИЯ 10.38, НЕСУЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ *ACDS*-ГЕН К ЗАГРЯЗНЕНИЮ СРЕДЫ ВЫСОКИМИ КОНЦЕНТРАЦИЯМИ НИКЕЛЯ

Ключевые слова: АЦК-ДЕЗАМИНАЗА, *ACDS*-ГЕН, НИКЕЛЬ, ЭТИЛЕН, АБИОТИЧЕСКИЙ СТРЕСС, *NICOTIANA TABACUM*, ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ, *PSEUDOMONAS PUTIDA* В-37.

Объекты исследования: *Nicotiana tabacum*, *P. putida* В-37

Цель: изучить устойчивость трансгенных растений *Nicotiana tabacum* линии 10.38, несущих *acdS*-ген бактерий *P. putida* В-37 к загрязнению почвы разными концентрациями солей никеля.

Методы исследования: микробиологические, молекулярно-генетические.

На протяжении всей жизни растения подвергаются воздействию различных стрессовых факторов. Которые преподают к снижению жизнеспособности и ростовых показателей, а при длительном влиянии, вызывают гибель. Одним из таких факторов являются тяжелые металлы. Большинство из них используются растениями в качестве микроэлементов, но они оказывают негативных эффект при повышенной концентрации в почве. Решением данной проблемы является применение трансгенных растений, содержащих бактериальный *acdS*-ген, продуцирующий АЦК-деаминазу. Этот фермент участвует в разрушении АЦК на аммиак и α -кетобутират. Это способствует уменьшению количества «стрессового этилена».

В данной работе изучалось воздействие солей никеля в различных концентрациях: $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-4}$ на устойчивость трансгенных растений *N. tabacum* линии 10.38 при выращивании *in vitro* и в открытом грунте. Была изучена экспрессия *acdS*-гена в трансгенных растениях *N. tabacum* линии 10.38 при выращивании в условиях стресса. Для этого выделяли тотальную ДНК из листьев *N. tabacum* и проверяли наличия целевого гена с использованием ПЦР. После выделяли РНК из листьев *N. tabacum* линии 10.38, осуществляли построение кДНК и проводили ПЦР в реальном времени с целью определения уровня экспрессии гена. Определяли накопление никеля в проростках растений с помощью ЭПР. Показано, что трансгенные растения *N. tabacum* линии 10.38 обладают повышенной устойчивостью к загрязнению среды высокими концентрациями никеля.

РЭФЕРАТ

Дыпломная праца 54 стар., 18 мал., 8 табл., 36 крыніц.

ВЫВУЧЭННЕ СТАБІЛЬНАСЦІ ТРАНСГЕННЫХ РАСЛІН *NICOTIANA TABACUM* ЛІНІЯ 10.38, ЯКІЯ НЯСУЦЬ БАКТЭРЫЯЛЬНЫ *acdS*-ГЕН ДА ЗАБРУДЖВАННЯ АСЯРОДДЗЯ ВЫСОКІМІ КАНЦЭНТРАЦЫЯМІ НІКЕЛЯ

Ключавыя словы: АЦК-ДЭЗАМІНАЗ, *acdS*-ГЕН, НІКЕЛЬ, ЭТЫЛЕН, АБІЯТЫЧНЫ СТРЭС, *NICOTIANA TABACUM*, ТРАНСГЕННЫХ РАСЛІНЫ, *PSEUDOMONAS PUTIDA* B-37.

Аб'екты даследавання: *N. tabacum*, *P. putida* B-37

Мэта: вывучыць устойлівасць трансгенных раслін *N. tabacum* якія маюць *acdS*-ген бактэрыі *P. putida* B-37 да забруджвання глебы рознымі канцэнтрацыямі соляў нікеля.

На працягу ўсяго жыцця расліны падвяргаюцца ўздзеянню розных стрэсавых фактараў. Якія могуць прывесці да зніжэння жыццяздольнасці і роставых паказанняў, а пры працяглым уплыве, выклікаюць гібель. Адным з такіх фактараў з'яўляюцца цяжкія металы. Большасць з іх выкарыстоўваюцца раслінамі ў якасці мікраэлементаў, але яны аказваюць негатыўны эффект пры падвышанай канцэнтрацыі ў глебе. Рашэннем дадзенай праблемы з'яўляецца прымяненне трансгенных раслін, якія змяшчаюць бактэрыяльны *acdS*-ген, экспрэсуюць АЦК-дэзаміназу. Гэты фермент удзельнічае ў разбурэнні АЦК на аміяк і α -кетобутірат. Гэта спрыяе памяншэнню колькасці "стрэсавага этылену".

У дадзенай працы вывучалася ўздзеянне соляў нікеля ў розных канцэнтрацыях: $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-4}$ на ўстойлівасць трансгенных раслін *N. tabacum* лініі 10.38 пры вырошчванні *in vitro* і ў адкрытым грунце. Была вывучана экспрэсія *acdS*-гена ў трансгенных раслінах *N. tabacum* лініі 10.38 пры вырошчванні ва ўмовах стрэсу. Для гэтага вылучалі татальную ДНК з лісця *N. tabacum* і правяралі наяўнасці мэтавага гена з выкарыстаннем ПЦР. Пасля вылучалі РНК з лісця *N. tabacum* лініі 10.38, ажыццяўлялі пабудову кДНК і праводзілі ПЦР у рэальным часе з мэтай вызначэння ўзроўню экспрэсіі гена. Вызначалі назапашванне нікеля ў раслінах з дапамогай ЭПР. Паказана, што трансгенныя расліны *N. tabacum* лініі 10.38 валодаюць падвышанай устойлівасцю да забруджвання асяроддзя высокімі канцэнтрацыямі нікеля.

ABSTRACT

Graduate work 54 pages, 18 figures, 8 tables, 36 sources.

STUDY OF THE RESISTANCE OF TRANSGENIC PLANTS *NICOTIANA TABACUM* LINE 10.38 CARRYING THE BACTERIAL *ACDS* GENE TO ENVIRONMENT POLLUTION WITH HIGH NICKEL CONCENTRATIONS

Keywords: ACC-DEAMINASE, *ACDS*-GENE, NICKEL, ETHYLENE, ABIOTIC STRESS, *NICOTIANA TABACUM*, TRANSGENIC PLANTS, *PSEUDOMONAS PUTIDA* B-37.

Objects of study: *Nicotiana tabacum*, *Pseudomonas putida* B-37

Purpose: to study the resistance of transgenic *N. tabacum* plants carrying the *acdS* gene of bacteria *P. putida* B-37 to soil pollution with various concentrations of nickel salts.

Research methods: microbiological, molecular genetic.

Throughout their life, plants are exposed to various stress factors. Which will lead to a decrease in viability and growth rates, and with prolonged exposure, cause death. One of these factors is heavy metals. Most of them are used by plants as trace elements, but they have a negative effect at high concentrations in the soil. The solution to this problem is the use of transgenic plants containing the bacterial *acdS* gene that produces ACC deaminase. This enzyme is involved in the breakdown of ACC into ammonia and α -ketobutyrate. This helps to reduce the amount of "stress ethylene".

In this work, we studied the effect of nickel salts at various concentrations: $1 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$, $1 \cdot 10^{-4}$ on the resistance of transgenic *N. tabacum* line 10.38 plants grown in vitro and in open ground. The expression of the *acdS* gene was studied in transgenic *N. tabacum* line 10.38 plants grown under stress conditions. For this, total DNA was isolated from the leaves of *N. tabacum* and the presence of the target gene was checked using PCR. After that, RNA was isolated from the leaves of *N. tabacum* line 10.38, cDNA was constructed, and real-time PCR was performed to determine the level of gene expression. Nickel accumulation in plants was determined using EPR. It was shown that transgenic plants *N. tabacum* line 10.38 have increased resistance to environmental pollution with high nickel concentrations.