

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

ТОЛКАЧ
Анна Александровна

АНАЛИЗ МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В
КЛЕТКАХ КОРНЯ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПОД
ДЕЙСТВИЕМ УЛЬТРАФИОЛЕТА

Аннотация
к дипломной работе

Научный руководитель:
старший преподаватель
Мацкевич В. С.

Допущена к защите
«___» _____ 2024 г.

Зав. кафедрой клеточной биологии и биоинженерии растений
кандидат биологических наук, доцент О.Г. Яковец

Минск, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

Перечень условных обозначений	3
Реферат	4
Введение.....	7
Глава 1 Обзор литературы.....	9
1.1 Общая характеристика ультрафиолетового излучения	9
1.2 Воздействие ультрафиолетового излучения на растения	11
1.3 <i>Arabidopsis thaliana</i> как модельный объект	14
1.4 Влияние ультрафиолета на <i>Arabidopsis thaliana</i>	17
1.5 Связь ультрафиолетового излучения и окислительного стресса.....	25
Глава 2 Материалы и методы исследования	27
2.1 Объект исследования	27
2.2 Культивирование арабидопсиса в стерильных условиях	27
2.3 Анализ накопления АФК в клетках корня при помощи флуоресцентного зонда ДГЭ.....	29
2.4 Статистический анализ.....	29
Глава 3 Результаты и их обсуждение.....	31
3.1. Изменение ростовых показателей корней при облучении УФ проростков арабидопсиса	31
3.2. Изменение ростовых показателей корней при облучении УФ семян арабидопсиса	33
3.3. Результаты измерения генерации АФК	35
3.4 Измерения генерации АФК при добавлении антиоксидантов	37
Заключение	40
Список использованных источников	41

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: 43 стр., 12 рис., 35 источн.

Ключевые слова: УФ-С; РОСТ; АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА; ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС; АНТИОКСИДАНТЫ; АРАБИДОПСИС.

Актуальность: свет является одним из важнейших факторов окружающей среды, которые влияют на рост и развитие высших растений. В последние годы показано, что умеренное УФ-С излучение может стимулировать рост и развитие растений, увеличивая их фотосинтетическую активность и повышая содержание хлорофилла. Однако, если интенсивность УФ-С излучения чрезмерна, обработка им может вызывать повреждения ДНК и мембран, запускать окислительный стресс, что приводит к замедлению роста и развития или даже гибели растения.

Объект исследования: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Цель работы: изучить влияние воздействия УФ-С на прорастание семян и уровень генерации АФК в клетках корня *Arabidopsis thaliana* и оценить эффективность антиоксидантов в снижении накопления АФК в ответ на обработку УФ-С.

Методы исследования: стандартизированные ростовые тесты с облучением проростков и семян УФ и измерение генерации АФК в корнях растений с использованием флуоресцентного зонда дигидроэтидиум (ДГЭ).

В результате работы было показано, что УФ-С оказывало стимулирующий эффект при облучении проростков *Arabidopsis thaliana* в течение 3 мин (наблюдалось увеличение прироста корня на 12,9%), более длительное воздействие УФ ингибировало рост. При облучении УФ в течение 60 мин рост полностью останавливался. Облучение семян УФ оказывало стимулирующий эффект: длина корня при облучении 60 мин увеличилась на 14%. Обработка растений УФ в течение 60 мин вызывала увеличение интенсивности флуоресценции ДГЭ в кончиках корней в 2,15 раза, в зрелой зоне корня – в 1,6 раз по сравнению с контролем, что говорит о синтезе АФК. При добавлении антиоксидантов перед облучением УФ наблюдалось уменьшение интенсивности флуоресценции ДГЭ в корнях арабидопсиса по сравнению с воздействием УФ-С в растворе буфера, при этом наиболее эффективными антиоксидантами выступали тиомочевина и СОД, а также ингибитор НАДФН-оксидаз (DPI). Это говорит о том, что УФ в первую очередь стимулирует синтез высокоактивных форм кислорода – гидроксильных и супероксиданионных радикалов, при этом НАДФН-оксидазы, вероятно, играют важную роль в усилении данного эффекта.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: 43 стар., 12 мал., 35 крын.

Ключавыя словы: УФ-С; РОСТ; АКТЫЎНЫЯ ФОРМЫ КІСЛАРОДУ; АКІСЛЯЛЬНЫХ СТРЭС; АНТЫАКСІДАНТЫ; АРАБІДОПСІС.

Актualityнасць: святло з'яўляецца адным з найважнейшых фактараў навакольнага асяроддзя, якія ўплываюць на рост і развіццё вышэйшых раслін. У апошнія гады паказана, што ўмеранае УФ-С выпраменьванне можа стымуляваць рост і развіццё раслін, павялічваючы іх фотасінтэтычную актыўнасць і павышаючы ўтрыманне хларафіла. Аднак, калі інтэнсіўнасць УФ-С выпраменьвання занадта высокая, яго ўздзеянне можа выклікаць пашкоджанне ДНК і мембран, запуская акісляльны стрэс, што прыводзіць да запаволення росту і развіцця ці нават гібелі расліны.

Аб'ект даследавання: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

Мэта работы: вывучыць уплыў ўздзеяння УФ-С на прарастанне насення і ўзровень генерацыі АФК ў каранёвых клетках *Arabidopsis thaliana* і ацаніць эфектыўнасць антыаксідантаў ў зніжэнні назапашвання АФК ў адказ на апрацоўку УФ-С.

Метады даследавання: стандартызаваныя роставыя тэсты з апраменьваннем праросткаў і насення УФ і вымярэнне генерацыі АФК у карнях раслін з выкарыстаннем флуарэсцэнтнага зонда дыгідраэтыдыум (ДГЭ).

У выніку работы было паказана, што УФ-С аказвала стымулюючы эфект пры апрамяненні праросткаў *Arabidopsis thaliana* на працягу 3 мін (назіралася павелічэнне прыросту караня на 12,9%), больш працяглае ўздзеянне УФ інгібіравала рост. Пры апрамяненні УФ на працягу 60 мін рост поўнасьцю спыняўся. Апрамяненне насення УФ аказвала стымулюючы эфект: даўжыня караня пры апрамяненні 60 мін павялічылася на 14%. Апрацоўка раслін УФ на працягу 60 мін выклікала павелічэнне інтэнсіўнасці флуарэсцэнцыі ДГЭ ў кончыках каранёў у 2,15 разы, у зоне ўсмоктвання караня – у 1,6 разоў у параўнанні з кантролем, што кажа аб сінтэзе АФК. Пры даданні антыаксідантаў перад апраменьваннем УФ назіралася памяншэнне інтэнсіўнасці флуарэсцэнцыі ДГЭ ў каранях арабідопсісу ў параўнанні з уздзеяннем УФ-С у растворы буфера, пры гэтым найбольш эфектыўнымі антыаксідантамі выступалі тыямачавіна і супераксіддысмутаза, а таксама інгібітар НАДФН-аксідаз (DPI). Гэта сведчыць аб тым, што УФ у першую чаргу стымулюе сінтэз высокаактыўных формаў кіслароду – гідраксільных і супероксіданіённых радыкалаў, пры гэтым НАДФН-аксідазы, верагодна, гуляюць важную ролю ва ўзмацненні дадзенага эфекту.

ABSTRACT

Graduate work: 43 p., 12 fig., 35 sources.

Keywords: UV-C; GROWTH; REACTIVE OXYGEN SPECIES; OXIDATIVE STRESS; ANTIOXIDANTS; ARABIDOPSIS.

Relevance: light is one of the most important environmental factors that influence the growth and development of higher plants. In recent years, it has been shown that moderate UV-C radiation can stimulate the growth and development of plants by increasing their photosynthetic activity and chlorophyll content. However, if the intensity of UV-C radiation is excessive, this treatment can cause damage to DNA and membranes, trigger oxidative stress, which can lead to stunted growth and slower development or even death of the plant.

Research object: *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

The aim of the work: study the effect of UV-C exposure on seed germination and the level of ROS generation in *Arabidopsis thaliana* root cells and evaluate the effectiveness of antioxidants in reducing ROS accumulation in response to the UV-C treatment.

Research methods: standardized growth tests with UV irradiation of seedlings and seeds and measurement of ROS generation in plant roots using the fluorescent probe dihydroethidium (DHE).

As a result, we found out that UV-C had a stimulating effect when *Arabidopsis thaliana* seedlings were irradiated for 3 min (an increase in root growth of 12.9% was observed); longer exposure to UV inhibited growth. When exposed to UV for 60 min, growth stopped completely. Irradiation of seeds with UV had a stimulating effect: the root length increased by 14% after irradiation for 60 min. Treatment of plants with UV for 60 min caused an increase in the intensity of DHE fluorescence in *Arabidopsis* root tips by 2.15 times, in the mature root zone – by 1.6 times compared to the control, which indicates the synthesis of ROS. When antioxidants were added before UV irradiation, a decrease in the fluorescence intensity of DHE in *Arabidopsis* roots was observed compared to exposure to UV-C in a buffer solution, with the most effective antioxidants being thiourea and SOD, as well as NADPH oxidase inhibitor (DPI). This suggests that UV primarily stimulates the synthesis of highly reactive oxygen species – hydroxyl and superoxidation radicals, with NADPH oxidases likely playing an important role in enhancing this effect.