

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ

КАФЕДРА ГЕНЕТИКИ

Направление: 06.04.01 – биология
Магистерская программа «Генетика»

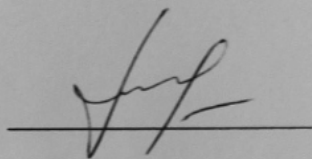
ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

**ФИЗИОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ
ДИТЕРПЕНОВОГО ГЛИКОЗИДА СТЕВИОЗИДА**

Работа завершена:

" 7 " июня 2017г.



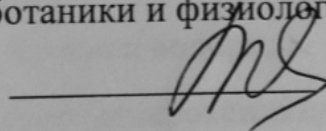
(В.В. Куприянова)

Работа допущена к защите:

Научные руководители

д.б.н., заведующая кафедрой ботаники и физиологии растений

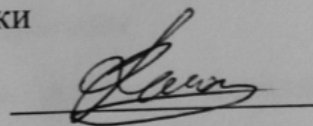
" 7 " июня 2017г.



(О.А. Тимофеева)

к.б.н., доцент кафедры генетики

" 7 " июня 2017г.

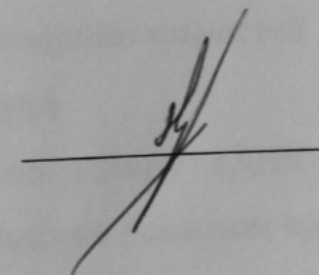


(А.Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

д.б.н., профессор

" 7 " июня 2017г.



(В.М. Чернов)

Казань–2017

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1 Гликозиды стевии	7
1.2 Биологическая активность стевииола и его производных	10
1.3 Антиоксидантная система защиты	13
1.4 Кальциевая сигнальная система растений и регуляция её состояния	16
1.5 Особенности изменения кальциевого баланса в растительных клетках при действии стрессоров	18
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	21
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	21
2.1 Объекты исследований	21
2.2 Схемы опытов	21
2.3 Морфометрия	22
2.4 Определение митотического индекса	22
2.5 Определение уровня перекисного окисления липидов (содержания малонового диальдегида)	24
2.6 Определение содержания перекиси водорода	25
2.7 Определение активности аскорбатпероксидазы	27
2.8 Определение активности каталазы	27
2.9 Определение содержания тяжелых металлов и микроэлементов в проростках	28
2.10 Анализ нуклеотидных последовательностей	29
2.11 Конструирование праймеров	29
2.12 Выделение РНК из растений и синтез кДНК	30
2.13 Полимеразная цепная реакция в реальном времени	30
2.14 Статистическая обработка результатов	31

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	32
3.1 Влияние стевиозида и тяжелых металлов на митотический индекс и длительность фаз митоза	32
3.2 Влияние стевиозида, кадмия и блокаторов кальциевых каналов на про/антиоксидантный статус проростков пшеницы	38
3.3 Содержание макро-, микроэлементов и тяжелых металлов в корнях и листьях растений озимой пшеницы	47
3.4 Влияние стевиозида на экспрессию генов лектиновых белков	49
ВЫВОДЫ	60
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	61

ВВЕДЕНИЕ

Одним из основных условий получения стабильных урожаев сельскохозяйственно ценных культур является применение регуляторов роста и биологически активных веществ, повышающих урожайность растений и их устойчивость к фитозаболеваниям и абиотическим стрессам. Современная наука предъявляет строгие требования к используемым препаратам, которые должны быть нетоксичными как для человека, так и для окружающей среды. В связи с этим особый интерес вызывают вещества, выделенные из природного сырья, являющиеся экологически безопасными и обладающие высокой биологической активностью в низких концентрациях.

Именно поэтому последние несколько лет на кафедре ботаники и физиологии растений Казанского федерального университета исследуются производные дитерпеноида стевiola, имеющего характерный для фитогормонов гиббереллинов гиббереллановой углеводородный скелет. За это время нами было исследовано более 20 соединений и выявлено, что самая высокая биологическая активность характерна для гликозида стевiola стевиозида. Стевиозид содержится в больших количествах в южноамериканском эндемике *Stevia rebaudiana* Bertoni и отличается сладким вкусом. Поэтому данное соединение, как и экстракт листьев стевии применяется в медицине в качестве нетоксичного низкокалорийного сахарозаменителя для больных сахарным диабетом.

Было показано, что стевиозид (10^{-8} М) повышает морозоустойчивость и стимулирует рост корней и листьев пшеницы Мироновская 808 [Невмержицкая с соавт., 2013], обладает антиоксидантной активностью [Тимофеева с соавт., 2015], уменьшает токсический эффект тяжелых металлов [Невмержицкая с соавт., 2013] и фитопатогенов [Невмержицкая с соавт., 2016]. В связи с этим цель настоящей работы состояла в выяснении механизмов действия дитерпенового гликозида стевиозида в растениях пшеницы.

В работе были поставлены следующие задачи:

- изучить влияние тяжелых металлов Cu, Cd и Zn и дитерпенового гликозида стевиозида на митотический индекс и длительность фаз митоза в корнях пшеницы;
- проанализировать эффект стевиозида на содержание малонового диальдегида, пероксида водорода и активность антиоксидантных ферментов у растений, обработанных кадмием и модификаторами кальциевых каналов;
- изучить экспрессию генов лектиновых белков в проростках пшеницы при действии стевиозида.