

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


ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

Магистерская диссертация

ВОДООБМЕН ПРОРОСТКОВ *ZEA MAYS* И ЭКСПРЕССИЯ  
ГЕНОВ АКВАПОРИНОВ ПОД ВЛИЯНИЕМ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ  
ЭЛЕМЕНТОВ

Работа завершена:

" 1 " июля 2017 г.

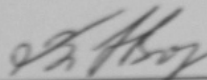
 (Е. А. Александров)

Работа допущена к защите:

Научный руководители


к. б. н., н. с., доцент

" 1 " июля 2017 г.

 (В. Н. Воробьев)

к. б. н., с. н. с., доцент

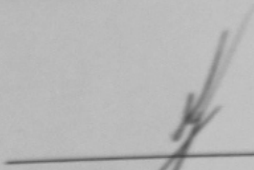
" 1 " июля 2017 г.

 (А. Р. Каюмов)

Заведующий кафедрой

профессор, д. б. н.

" 1 " июля 2017 г.

 (В. М. Чернов)

Казань – 2017

## СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	2
<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	7
<b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	9
1.1 Вода в жизни растений	9
1.2 Пути водного транспорта растений	10
1.3 Аквапорины (AQPs)	13
1.3.1 Классификация растительных аквапоринов	13
1.3.2 Филогения аквапоринов	14
1.3.3 Структура аквапоринов	16
1.3.4 Субстрат специфичность аквапоринов	16
1.3.5 Активность аквапоринов	18
1.3.6 Блокаторы аквапоринов	20
1.3.7. Посттрансляционные модификации аквапоринов	21
1.3.8 PIP аквапорины	22
1.3.8.1 Роль и взаимодействие PIP изоформ	22
1.3.9 TIR Аквапорины	24
1.4 Функциональная роль аквапориновых белков	25
1.4.1 Роль аквапоринов в регуляции водного транспорта	25
1.4.2 Роль аквапоринов в газообмене	27
1.4.3 Участие аквапоринов в росте и развитии растений	27
1.4.4 Роль аквапоринов в анизогидрическом поведении растений	28
1.5 Функциональные подходы изучения аквапоринов	29
1.5.1 Анализ ооцитов Xenopus	29
1.5.2 Метод ядерно-магнитного резонанса	31
1.6 Аквапориновый трафик	32
1.7 Везикулярный транспорт	32
1.7.1 SNARE белки и механизм их действия	33

1.7.2 Классификация SNAREs	35
1.7.2.1 Q-SNAREs растений	36
1.7.2.1.1 Синтаксины (Qa)	36
1.7.2.1.2 Qb и Qc	37
1.7.2.2 R-SNAREs растений	38
1.7.3 SYP121 и ZM-PIP 2;5	38
1.8 Редкоземельные элементы	39
1.8.1 Применение РЗЭ в сельскохозяйственном комплексе	39
1.8.2 Механизм проникновения РЗЭ в растительную клетку	40
1.9 Влияние РЗЭ на растительные организмы	41
1.9.1 Способность лантана к замещению кальция	41
1.9.2 Влияние на растительные ферменты	42
1.9.3 Влияние на цитоплазматические мембраны	42
1.9.4 Влияние на фотосинтетическую активность	43
1.9.5 Влияние на гормональные системы	44
<b>ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ</b>	45
<b>2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ</b>	45
2.1 Объект исследований	45
2.1.1 Условия проращивания	45
2.2 Приготовление образцов для ЯМР	45
2.3 Метод ЯМР	45
2.3.1 Оценка диффузионной водопроницаемости мембран	46
2.4 Метод определения параметров газообмена растений	47
2.5 Расчёт относительного содержания воды в листьях	49
2.6 Анализ нуклеотидных последовательностей	49
2.6.1 Конструирование праймеров	49
2.7 Выделение РНК и синтез кДНК	51
2.7.1 Полимеразная цепная реакция в реальном времени	51
2.7.2 Расчет относительного уровня экспрессии	52



2.8 Электрофорез нуклеиновых кислот в агарозном геле	53
2.9 Статистическая обработка данных	53
<b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ</b>	54
<b>ВЫВОДЫ</b>	63
<b>СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ</b>	64

Было выяснено, что наличие катионных лантанов увеличивает активность ферментов антиоксидантной системы, снижает, а также ингибирует активность оксидаз и цитохромов. Известны данные о влиянии РЗЭ на стабильность и функциональное состояние цитоскелета в клеточных мембранах. Кроме того, РЗЭ могут работать как мощные ормозимальные эффекторы. После обработки РЗЭ наблюдается повышение содержания НУК. Было обнаружено увеличение количества предвещенных синтеза НУК – триптофана.

Попытки объяснить повышение урожайности только изменениями в интенсивности биохимических процессов или изменением гормонального статуса будут не полными без учета параметров водного обмена, так как именно водная среда обеспечивает взаимосвязь на различных уровнях организации, клеточном, тканевом и органном. Значимость водного обмена растений трудно переоценить поскольку необходимый для фотосинтеза  $\text{CO}_2$  поступает в лист во время транспирации. Это означает, что повышение продуктивности под действием лантанов не возможно без модификации гидравлической системы растений, параметры которой в значительной степени определяются аквапоринами (AQPs) [Moshellon et al., 2015]. Однако, возможность влияния РЗЭ на экспрессию генов аквапорина (AQPs) в доступной литературе ранее не обсуждалась.

Отсутствие работ по исследованию влияния лантанов на параметры водного обмена явилось стимулом к проведению данного исследования, цель которого – выявить молекулярно-генетические и

## ВВЕДЕНИЕ

Благоприятное влияние редкоземельных элементов (РЗЭ) на рост растений известно с 19 века. С конца 20 века и по настоящее время активное применение РЗЭ в сельском хозяйстве обусловлено влиянием элементов этой группы на физиолого-биохимические процессы растений, что приводит к повышению урожайности без потери в качестве многих с/х культур.

Было выяснено, что низкие концентрации лантаноидов увеличивают активность ферментов антиоксидантной системы, инвертаз, амилаз и ингибируют активность оксидаз индолил-уксусных кислот. Известны данные о влиянии РЗЭ на стабильность и функциональное состояние компонентов цитоскелета и клеточных мембран. Кроме того, РЗЭ могут работать как мощные гормональные эффекторы. После обработки РЗЭ наблюдалось повышение содержания ИУК. Было обнаружено увеличение количества предшественника синтеза ИУК – триптофана.

Попытки объяснить повышение урожайности только изменениями в интенсивности биохимических процессов или изменениями гормонального статуса будут не полными без учета параметров водного обмена, так как именно водная среда обеспечивает взаимосвязь на различных уровнях организации, клеточном, тканевом и органном. Значимость водного обмена растений трудно переоценить поскольку необходимый для фотосинтеза  $\text{CO}_2$  поступает в лист во время транспирации. Это означает, что повышение продуктивности под действием лантаноидов не возможно без модификации гидравлической системы растений, параметры которой в значительной степени определяются аквапоринами (AQPs) [Moshelion *et al.*, 2015]. Однако, возможность влияния РЗЭ на экспрессию генов аквапоринов (AQPs) в доступной литературе ранее не обсуждалась.

Отсутствие работ по исследованию влияния лантаноидов на параметры водного обмена явилось стимулом к проведению данного исследования, цель которого – выявить молекулярно-генетические и

физиологические особенности водообмена проростков кукурузы выращенных на растворах содержащих ионы лантаноидов.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Оценить влияние лантаноидов на диффузионную проницаемость ( $P_d$ ) мембран клеток корней проростков кукурузы.
2. Исследовать изменения устьичной проводимости для воды ( $g_w$ ) и относительной оводненности листьев (RWC) проростков при добавлении в корнеобитаемую среду ионов лантаноидов.
3. Выяснить возможность влияния редкоземельных ионов на индукцию экспрессии генов, продукты которых определяют состояние гидродинамической системы проростков кукурузы.