

VILNIAUS ŽIRMŪNŲ GIMNAZIJA

**SAUSROS POVEIKIS KALCIO TRANSPORTO MUTACIJĄ
TURINTIEMS BALTAŽIEDŽIAMS VAIRENIAMS *ARABIDOPSIS
THALIANA***

KASPARAS PUODŽIŪNAS, KASPARAS URBANAVIČIUS

DARBO VADOVĖ:

Biologijos vyr. mokytoja Vilma Baužienė

Vilnius

2019 metai

TURINYS

ĮVADAS.....	3
Tikslas ir uždaviniai.....	3
Darbo metodika.....	4
Darbo rezultatai ir jų analizė.....	5
Baltažiedžių vairenių – laukinio tipo ir Ca transporto mutantų – auginimas įprastomis sąlygomis.....	5
Baltažiedžių vairenių – laukinio tipo ir Ca transporto mutantų – auginimas palaikant drėgmės stygių.....	5
Baltažiedžių vairenių – laukinio tipo ir Ca transporto mutantų – chlorofilų a ir b spektrometrinė analizė.....	6
IŠVADOS.....	7
LITERATŪRA.....	7

IVADAS

Problematika. Pasaulyje ir Lietuvoje dėl sausrų parandama dalis kultūrinių augalų derliaus. Vandens trūkumas lėtina fotosintezės procesą, mažina biomasės prieaugį, tai augalams sukelia fiziologinį stresą, todėl žūsta atskiros jų dalys arba visas augalas.

Aktualumas. Dėl sausros žemės ūkis praranda didelę dalį pelno. Todėl ieškoma būdų kaip sumažinti sausros poveikį ekonomiškai svarbiems augalams. Plačiai naudojamų brangių preparatų, kurie didina augalų atsparumą vandens stygiui, sudėtyje nėra kalcio. Literatūros duomenimis, būtent kalcio koncentracija augalo ląstelėse padidėja veikiant įvairiems abiotiniams stresoriams.

Naujumas. Laboratorijos sąlygomis, atlikdami tyrimus su laukinio tipo ir genetinės linijos (turinčios kalcio transporto mutaciją) vaireniais *Arabidopsis thaliana*, mes eksperimentiniu būdu įrodėme, kad kalcis didina augalų atsparumą sausrai.

Pritaikomumas. Atlikus tolimesnius numatytus tyrimus, kalcio preparatus galima būtų naudoti žemdirbystėje sausros metu. Šie preparatai nėra brangūs, junginiai lengvai tirpstantys vandenyje, jų nuotėkis nesukeltų vandens telkinių eutrofikacijos.

Tikslas:

Nustatyti, ar kalcio transporto mutacija turi įtakos baltažiedžio vairo A. *thaliana* augalų augimui skirtingomis sąlygomis.

Uždaviniai:

1. Palyginti baltažiedžio vairo A *thaliana* laukinio tipo ir Ca mutaciją turinčios genetinės linijos, augimą laboratorijos sąlygomis, užtikrinant reikiamą vandens kiekį.
2. Palyginti baltažiedžio vairo A. *thaliana* laukinio tipo ir Ca mutaciją turinčios genetinės linijos, augimą laboratorijoje sausros sąlygomis.

Hipotezė: Augalai su kalcio transporto mutacija, t. y. turintys savo ląstelėse didesnę kalcio koncentraciją, sukaupia didesnę biomasę ir yra atsparesni vandens stygiui.

Darbo metodika

Vairenio auginimas įprastomis sąlygomis. Kontrolės (laukinio tipo augalai) ir bandymo (genetinės linijos su kalcio transporto mutacija augalai) grupių vairenio sėklos buvo sudaiginamos ant drėkinamo filtrinio popieriaus. Po savaitės daigeliai su 1-2 lapeliais persodinami į dirvožemį, laistomi ir laikomi augalų auginimo kambaryje (16:8 h šviesa / tamsa, 60% oro drėgmė, +24°C). Augalai buvo pastoviai laistomi vandeniu. Po 5 savaičių augalai raunami, nustatoma jų žalia (svarstyklės „Kern 440-43N“; jautrumas 0,1 g) ir sausa biomasė (svarstyklės „Acculab ATL-124-I Atilon“, jautrumas - 0,1 mg), pigmentų kiekis.

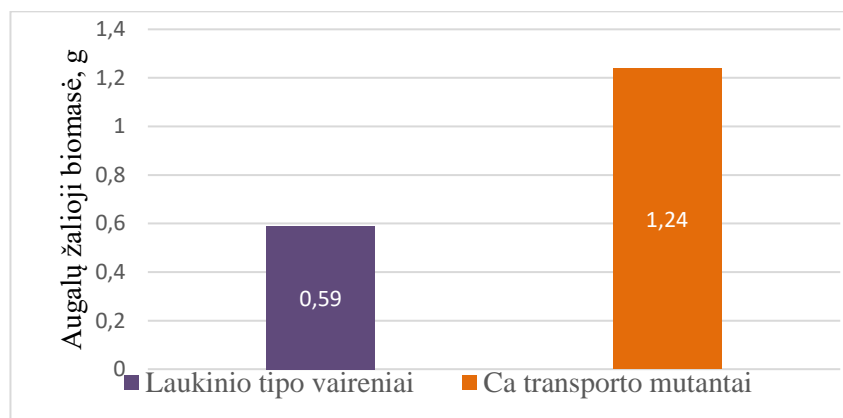
Vairenio auginimas sausros sąlygomis. Tam dvi savaites vaireniai buvo laistomi įprastai, tačiau naudojamas vandens absorbentas polietilenglikolis (po 2,6 g/vazonėliui). Tokiu būdu vandens kiekis dirvoje mažėjo, augalams buvo sukelta sausra. Po to kontrolės grupės baltažiedžiai vaireniai (laukinio tipo ir kalcio transporto mutantai nepaveikti polietilenglikoliu) ir bandymo grupės vaireniai (laukinio tipo ir kalcio transporto mutantai paveikti polietilenglikoliu) buvo išrauti, pasverta jų žalia, sausa biomasė, nustatyti jų pigmentai.

Laboratorijos sąlygomis augintų vairenio chlorofilo a ir b spektrometrinė analizė sugerties spektroskopijos metodu. Siekiant nustatyti, ar Ca transporto mutacija gali turėti įtakos vairenio fotosintezės pigmentų kiekybei, buvo atliktas skirtingomis sąlygomis augintų augalų pigmentų spektroskopijos palyginimas. Šiam tyrimui buvo naudojamas „Specord 210 plus“ spektrometras. Augalų lapeliai buvo sukarpyti mažais gabaliukais ir sudėti į mėgintuvėlius (viename mėgintuvėlyje buvo maždaug 0,0500 mg augalo lapelių). Į mėgintuvėlius buvo pripilta po 2 gramus dimethylformamido. Mėgintuvėliai laikyti šaldytuve 2 savaites. Po to skystis iš mėgintuvėlių buvo supiltas į aparatą ir gauti duomenys.

Darbo rezultatai ir jų aptarimas

Baltažiedžio vairo – laukinio tipo ir Ca transporto mutantų – augimas įprastomis sąlygomis. Mūsų tyrimo duomenimis Ca transporto mutantų, auginamų įprastomis laboratorijos sąlygomis, žalios biomasės vidurkis yra didesnis daugiau nei 2 kartus (0,65 g) lyginant su laukinio tipo vairo (1 pav.). Be to mutantų, augančių įprastomis laboratorijos sąlygomis sausos biomasės vidurkis yra didesnis 0,04g nei laukinio tipo vairo. Mokslininkas Rashad Kebeish ir jo komanda 2007 metais atlikę tyrimą, kuriame lygino vairo biomases, gavo panašius duomenis, rodančius mutantų biomasės spartesnę didėjimą.

Baltažiedžio vairo – laukinio tipo ir Ca transporto mutantų – auginimas laboratorijoje dirbtinai palaikant drėgmės stygių. Gauti mūsų tyrimo duomenys parodė, kad Ca transporto mutantai neišdžiūvo auginant sausros sąlygomis. Tuo tarpu laukinio tipo vairo sunyko (2 pav.). Be to mutantų auginamų sausros sąlygomis žalios biomasės vidurkis yra didesnis 0,22 g nei laukinio tipo augalų. Taigi, mutantai geriau reaguoja į vandens stygių, lengviau perneša sausrą (3 pav.). Tuo jų sausos biomasės vidurkis mažesnis nei laukinio tipo vairo 0,01 g. Panašius žalos biomasės skirtumus nurodo ir Rashad Kebeish savo tyrimo rezultatuose (2007) [1].

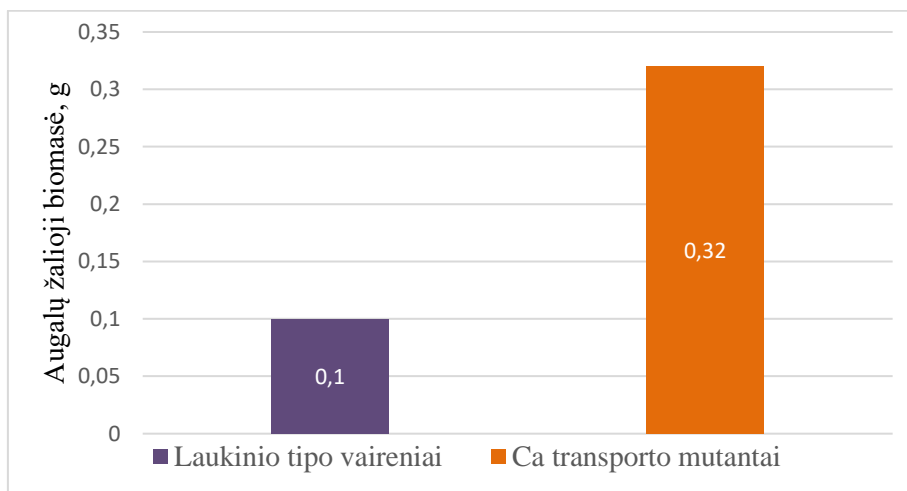


1 pav. Baltažiedžio vairo *Arabidopsis thaliana* laukinio tipo ir Ca transporto mutantų žalioji biomasė esant normaliam laistymo režimui.



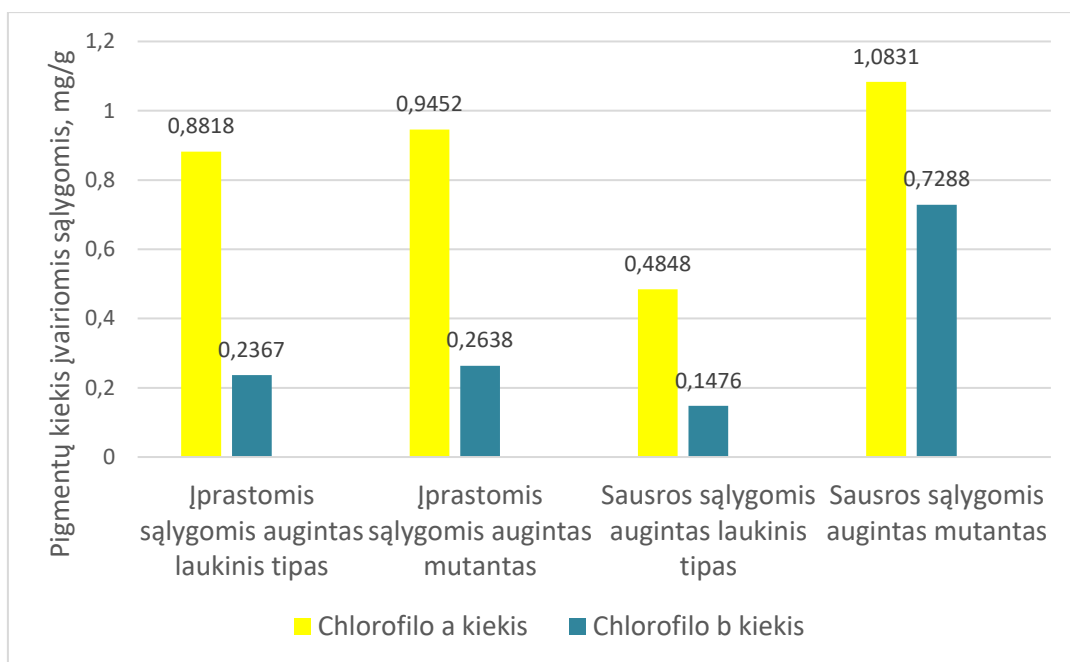
2 pav. Ca transporto mutantai ir laukinio tipo baltažiedžiai vairo auginami sausros sąlygomis

Baltažiedžio vairo *Arabidopsis thaliana* – laukinio tipo ir Ca transporto mutantų – chlorofilo a ir b spektrometrinė analizė sugerties spektroskopijos metodu. Buvo nustatyta, kad kalcio transporto mutantų, augusių sausros sąlygomis, chlorofilų a ir b kiekis yra didesnis nei laukinio tipo vairo, augusių tokiomis pačiomis sąlygomis.



3 pav. Baltažiedžio vairo *Arabidopsis thaliana* laukinio tipo ir Ca transporto mutantų žalioji biomasė sausros sąlygomis

Augalų, augusių laboratorijos sąlygomis pigmentų kiekis yra labai panašus (4 pav.). Mokslininko Yang Cai, Qi Sun (2005 m) tyrimų rezultatai parodė panašią fotosintezės pigmentų kiekio žalioje masėje tendenciją [2]. Taigi, mūsų tyrimai patvirtina Ca transporto mutacijos įtaką pigmentų kiekio didėjimui.



4 pav. Baltažiedžio vairo *Arabidopsis thaliana* laukinio tipo ir Ca transporto mutantų turimas pigmentų kiekis įvairiomis sąlygomis

IŠVADOS

1. Įprastomis laboratorijos sąlygomis baltažiedžių vairenių, turinčių kalcio transporto mutaciją, žalioji ir sausoji biomasė yra didesnė lyginant su laukinio tipo vaireniais.
2. Kalcio transporto mutantai yra atsparūs sausros poveikiui, jų žalioji biomasė yra didesnė nei laukinio tipo vairenių.
3. Laboratorijos sąlygomis auginti kalcio transporto mutantai ir laukinio tipo vaireniai pigmentų (chlorofilo a ir b) kiekį turi panašų. Sausros sąlygomis augę mutantai pigmentų masę pranoksta sausros sąlygomis augusių laukinio tipo vairenių turimą pigmentų kiekį. Kalcio transporto mutacija įtakoja vairo foto sintezės pigmentų kiekybę abiotinio streso sąlygomis.

LITERATŪRA:

1. Rashad Kebeish, Markus Niessen, Krishnaveni Thiruveedhi, Rafijul Bari, Heinz-Josef Hirsch, Ruben Rosenkranz, Norma Stäbler,, Barbara Schönfeld, Fritz Kreuzaler& Christoph Peterhänsel. 2007. Chloroplastic photorespiratory bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Biotechnology* volume25: 593–59.
2. Yang Cai, Qi Sun, Vladimir Zabrouskov, Lisa Giacomelli, A. Jimmy Ytterberg, Heidi Rutschow ir Klaas J. van Wijk 2005. The Oligomeric Stromal Proteome of *Arabidopsis thaliana* Chloroplasts. *Molecular & Cellular Proteomics* 5 (1): 114-133.