

Az oxidatív stressz hatásának vizsgálata a zöld színtestek mozgására lúdfűben (*Arabidopsis thaliana*)

Szolyka Levente

11. évfolyam, Szent Miklós Görögkatolikus Gimnázium és Kollégium, Nyíregyháza

Témavezető: Dr. Máthé Csaba; Mentor: Freytag Csongor; Felkészítő tanár: Seszták Ilona

A korábbi vizsgálataink során megfigyeltük, hogy a fénymikroszkópban bizonyos idő elteltével a növények levelei áttetszőbbé válnak. Ezen folyamat felkeltette érdeklődésünket és megvizsgáltuk, hogyan hatnak erre a kutatócsoportunk által régóta vizsgált anyagok. Ennek a jelenségnek a hátterében a zöld színtestek fény indukált mozgása áll, amelynek a hatékonyabb fényhasznosításban, illetve a fény stressz elleni védelemben jut fontos szerep.

A kutatásunk során ezen mozgások vizsgálatához a mikroszkópos time-lapse felvételeket hívtuk segítségül. Az így keletkező képszekvenciák digitális elemzésével mérhető az egyes plasztiszok mozgási sebessége és útja nagy időbeli és térbeli felbontással, így feltérképezhető a növények fény stressz elkerülő reakciójának lefolyása. A hosszú távú videofelvételzés technikájával képesek vagyunk nem csak a végponti értékekről, hanem az egész folyamatról tájékozódni. Ezzel a módszerrel költséghatékonyan vizsgálhatjuk a kloroplasztiszok mozgásának változását az oxidatív stressz hatására.

Céлом a kutatás során a time-lapse felvételek digitális elemzésével mérni a kompartment mozgások változásait. Ennek segítségével pedig feltárni a mikrocisztin-LR és a dikvát hatását a kloroplasztiszok mozgására.

Vizsgálatainkhoz a vad típusú lúdfű (*Arabidopsis thaliana* Col-0) modellfaj 4 napos csíranövényeit használtuk. A felület sterilizált magokat 48 óra vernalizálás után fotoperióduson (14/10 fény/sötét, $21 \pm 1^\circ\text{C}$) neveltük elő. A növényeket a vizsgálat során biotikus és abiotikus stressz hatásoknak tettük ki. A 24 órás kezelésekhez cianobakteriális toxint a mikrocisztin-LR-t, amely egy protein foszfatáz 2A inhibitor, valamint a dikvát nevű herbicidet alkalmaztuk. A mikroszkópos time-lapse felvételek elemzését az ImageJ nyílt-forráskódú szoftver segítségével végeztem. Az oxidatív stressz vizsgálatához a DCFDA festést használtuk, amely fluoreszcens technika, élő sejtekben a reaktív oxigénformák (ROS) szintjének relatív meghatározására szolgál.

A kutatásunk során érdekes eredményekre találtunk. Az oxidatív stressz a helyett, hogy gátolná a kloroplasztiszok mozgását, fokozza azt, ugyanis a megtett utak összege és az átlagsebesség alapján megállapíthatjuk, hogy a dikvát kezelés ($0,710 \mu\text{m}/\text{min}$) fokozza a plasztiszok sebességét a fény stressz reakció során a kontrollhoz képest ($0,421 \mu\text{m}/\text{min}$). A mikrocisztin-LR esetében ($0,494 \mu\text{m}/\text{min}$) is tapasztaltunk fokozódást, de itt a reakció nagyjából 3 perc után fokozatosan csillapodik. Az általam mért sebességek megfelelnek a szakirodalomban leírtaknak, teljes spektrumú megvilágítás esetén. Eredményeink illeszkednek a plasztiszok aktin mediált mozgási modelljéhez.

A kutatásunkban végeztünk egyéb méréseket is. A plasztiszok átmérőjének vizsgálata alapján levonhatjuk azt a következtetést, hogy a dikvát gátolja a plasztiszok osztódását, amely bizonyíték arra, hogy valóban jelentős stresszt okoz azoknak. A plasztiszok elmozdulásának irányáról is információkat gyűjtöttünk, amely megfelel a szakirodalomban leírt lokalizációknak. A ROS szint mérések alapján megállapíthatjuk, hogy csak a mikrocisztin-LR esetében van csak jelentős emelkedés a felvételek elkészítése után, amelyet valószínűleg az antioxidáns rendszer hibája okoz. A dikvát esetében alacsony marad a ROS szint, hiszen ebben működik annak eliminálására szolgáló antioxidáns rendszer.

Érdekességgéppen megmértük a kloroplasztiszok sebességét egy kináz mutánsban is. Ebben a növényben késleltetett gravitropikus választ figyeltek meg, mi pedig nagyon lassú ($0,274 \mu\text{m}/\text{min}$) kloroplasztiszokat találtunk alacsony ROS szint mellett. Ezeknek az lehet az oka, hogy a mutánsban a foszforilációs folyamat hibás, ez jeltovábbítási zavart okoz.