

Gamtamoksliai tyrimai mokykloje
Laboratorinis darbas
Augalų ląstelių membranų pralaidumo tyrimas

Teorinė dalis

Augalų ląstelės turi storą sienelę, sudarytą daugiausiai iš celiuliozės ir lignino. Sienelė atlieka daugiausiai struktūrinę funkciją, jos elementai išsidėstę santykinai retai, dėl to ji dažniausiai neturi įtakos medžiagų transportui į ir iš ląstelės.

Plazminė membrana ir vakuolės membrana (tonoplastas) bei kitos membranos sudarytos fosfolipidų dvisluoksnio pagrindu. Į membraną taip pat yra įsiterpę cholesterolio, įvairių baltymų (~50% membranos masės), kitų molekulių. Skirtingų membranų sudėtys gali ženkliai skirtis, nes membranų specifinės funkcijos irgi skiriasi. Membrana yra selektyviai pralaidi: hidrofobinės neutralios molekulės per membraną pereina lengvai, o vanduo, turinčios krūvį ar didelės molekulės per membraną dažniausiai gali pereiti tik per specialius baltymus. Plazminės membranos selektyvumas leidžia ląstelėms kaupti reikiamas medžiagas ir neįsileisti vidun kenksmingų. Tonoplastas (ir kitos organelių membranos) analogiškai leidžia perskirstyti medžiagas ląstelėje ir selektyviai jas kaupti ląstelės kompartmentuose bei palaikyti reikalingas jų koncentracijas.

Membranos takumui įtakos turi jos sudėtis, – pavyzdžiui, sočiųjų ir nesočiųjų riebalų rūgčių santykis. Didesnė koncentracija cholesterolio membranas daro stangresnes. Membranos savybėms svarbus temperatūros poveikis – kuo aukštesnė temperatūra, tuo membranos takesnės ir pralaidesnės. Aukšta temperatūra gali denatūruoti membranos baltymus, tuomet baltymai praranda savo struktūrą ir funkciją, o membranoje gali atsirasti skylių.

Raudoniesiems burokėliams (*Beta vulgaris*) spalvą suteikia ląstelių vakuolėse esantys pigmentai betacianinai, iš kurių dažniausias – betaninas. Fiziologinėmis sąlygomis nei vakuolės membrana (tonoplastas), nei plazminė membrana betacianinams nėra pralaidūs. Betacianinai iš ląstelės gali išsiliesti tik pažeidus abi ląstelės membranas.

Spalvą galima apibūdinti įvairiais formatais, pavyzdžiui HSL (*angl.* „Hue-saturation-lightness“ – „atspalvis-sodrumas-šviesumas“) arba HSV (*angl.* „Hue-saturation-value“ – „atspalvis-sodrumas-vertė“). „Hue“ (H) – „atspalvis“ – parodo spektro spalvą (pavyzdžiui, raudoną ar žalią) ir įgauna vertes nuo 0° iki 360°, „saturation“ (S) – „sodrumas“ reiškia spalvos ryškumą (nuo permatomos (0%) iki pačios sodriausios (100%)), „lightness“ (L) – „šviesumas“ ir „value“ (V) – „vertė“ parodo, kiek spalva panaši į juodą ar baltą (įgyjamos vertės nuo 0% iki 100%). Žinoma, kad skirtingų spalvų tirpalai gali sugerti šviesą. Kuo didesnė tirpalo koncentracija, tuo daugiau šviesos sugerama, tuo tirpalo spalva atrodo sodresnė. Dėl šios savybės žinant kelių tos pačios medžiagos tirpalų spalvų „S“ vertes galima spręsti, kuriame tirpale ištirpusių medžiagų koncentracija didesnė.

Darbo tikslas

Įvertinti, kokios aplinkos sąlygos gali pažeisti augalų membranas.

Darbo užduotys

- 1) Nustatyti, kaip temperatūra veikia raudonojo burokėlio (*Beta vulgaris*) membranų pralaidumą.
- 2) Nustatyti, kaip įvairios cheminės medžiagos veikia raudonojo burokėlio (*Beta vulgaris*) membranų pralaidumą.

Darbo eiga

1) Valgomojo burokėlio (*Beta vulgaris*) šaknis nuplaunama, iš jos išpjunami 9 kuo vienodesni kubeliai, kurių kiekvienos kraštinės ilgis siekia maždaug 1-2 cm.

2) Kubeliai kruopščiai nuplaunami, kad būtų pašalintos nebegyvų perpjautų ląstelių liekanos ir išsiliejusios ląstelių sultys.

3) Kubeliai įdedami į vienodo tūrio skirtingus tirpalus:

- a. 3 skirtingos temperatūros tirpalai (kambario temperatūros vanduo, atšaldytas vanduo, pašildytas vanduo) po 10 ml;
- b. 3 skirtingos koncentracijos medžiagos X tirpalai po 10 ml, pradinės koncentracijos tirpalą skiedžiant vandeniu;

Galima medžiaga X: 3 % vandenilio peroksido tirpalas, 9 % maistinės acto rūgšties tirpalas, 33 % etanolio tirpalas, dezinfekcinis skystis, gėrimas „Sprite“, citrinos rūgšties tirpalas, indų ploviklio tirpalas ir kiti.

4) Preparatai paliekami 15 min, nepamirštama pamaišyti.

5) Raudonojo burokėlio kubeliai išimami iš indų, likęs tirpalas nufotografuojamas.

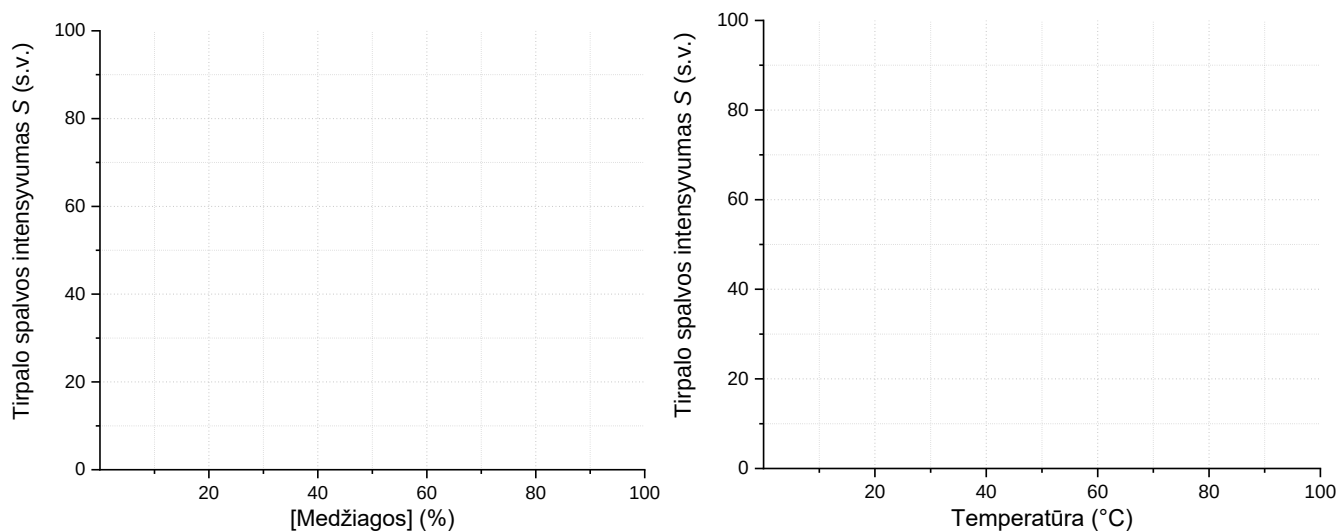
6) Vienu iš dviejų būdų įvertinama tirpalo spalva.

- a. Naudojama mobiliojo telefono programėlė, gebanti atpažinti per kamerą matomą tirpalo spalvą HSL arba HSV formatu (pavyzdžiui „Color Grab“ programėlė „Android“ operacinei sistemai). Kiekvienu atveju pasirenkama „S“ vertė ir įrašoma į 1 lentelę.
- b. Tirpalas nufotografuojamas, spalvotas plotas programiškai suvidurkinamas (pavyzdžiui, naudojant tinklalapį <https://matkl.github.io/average-color/>). Pasirenkama HSL arba HSV „S“ vertė ir kiekvienu atveju įrašoma į 1 lentelę.

1 lentelė. Tirpalų spalvos.

Tirpalas	Tirpalo spalvos „S“ vertė
...	...

7) Nubraižomas medžiagos X tirpalo spalvos intensyvumo vertės S priklausomybės nuo medžiagos koncentracijos grafikas, taip pat spalvos intensyvumo vertės S priklausomybės nuo temperatūros grafikas (1 pav.).



1 pav. Tirpalo, veikusio valgomojo burokėlio (*Beta vulgaris*) preparatus, spalvos intensyvumo S vertės priklausomybės nuo naudotos medžiagos koncentracijos [Medžiagos] bei temperatūros grafikai.

8) Palyginamas skirtingų medžiagų ir skirtingų jų koncentracijų poveikis valgomojo burokėlio (*Beta vulgaris*) ląstelėms. Pasvarstoma, kokius struktūrinius membranos elementus veikia naudotos medžiagos.

9) Padaromos išvados.

Kontroliniai klausimai

- 1) Iš ko sudarytos ląstelių membranos?
- 2) Koks ląstelių vakuolių vaidmuo?
- 3) Kokios sąlygos ir kaip gali paveikti ląstelių membranų pralaidumą?
- 4) Kuo fiziologiškai svarbus ląstelių membranų pralaidumas?