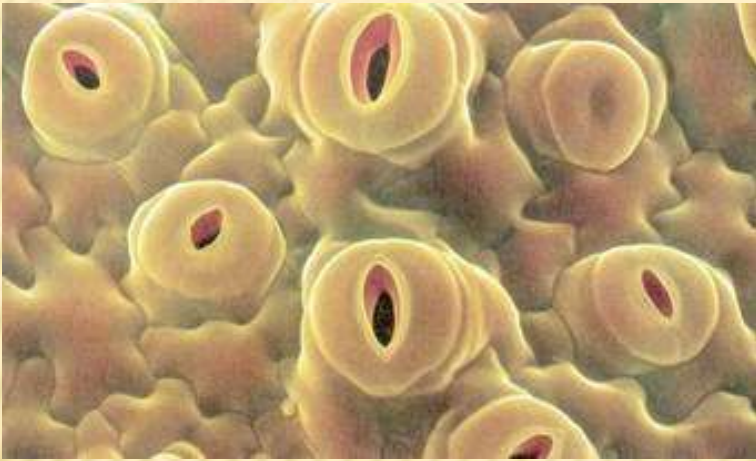




VYTAUTO DIDŽIOJO
UNIVERSITETAS
MCMXXII

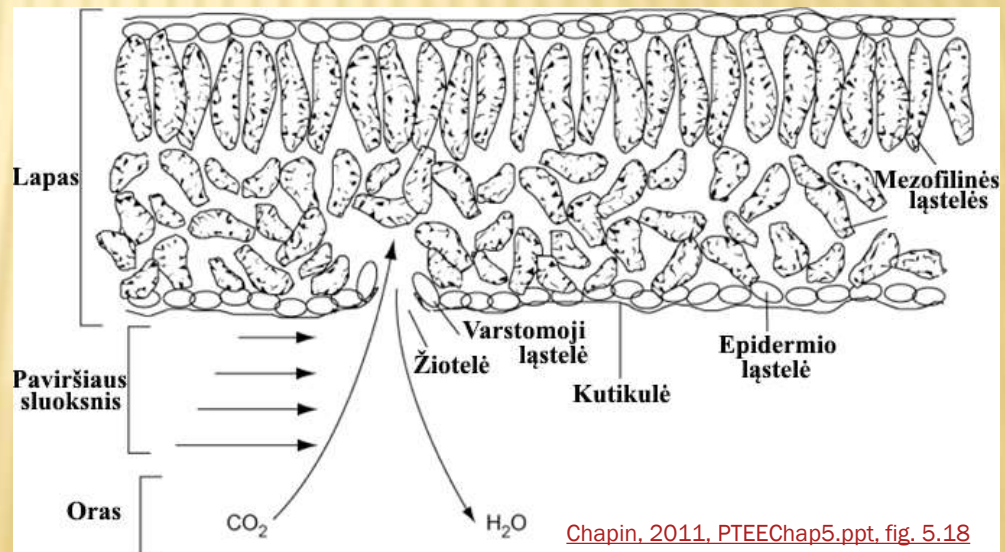
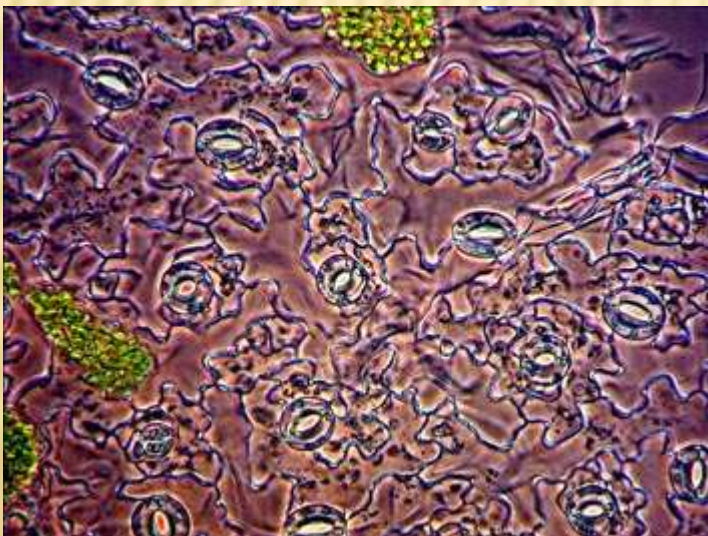


Vida Mildažienė

AUGALŲ ŽIOTELES

KODĖL IDOMU TIRTI AUGALŲ ŽIOTELES?

- ✘ Augalai sudaro 99 proc. Žemės organizmų, tačiau jų svarba nėra deramai vertinama (vyrauja „aklumas augalams“ ir zoocentrizmas), o tyrimams skiriama santykinai mažai dėmesio;
- ✘ Fotosintezė yra būdingas augalams vyksmas, nuo kurio priklauso daugelio Žemės biosferos organizmų egzistavimas (RUBISCO – gausiausias biosferos fermentas);
- ✘ Fotosintezei būtini dujų mainai tarp lapo ir oro: į lapą patenka CO_2 ir O_2 , šalinamas vanduo. Tai vyksta per poras, vadinamas žiotelėmis. Jas sudaro dvi varstomosios ląstelės, kurios gali atverti (padidėjus turgorui) ir užverti (sumažėjus turgorui) žiotelę.
- ✘ Transpiracija (H_2O garinimas per žioteles) svarbi fotosintezei, augalo vandens kiekiui ir lapų temperatūrai valdyti. Didelis medis karštą dieną per lapų žioteles gali pašalinti iki 400 l vandens!

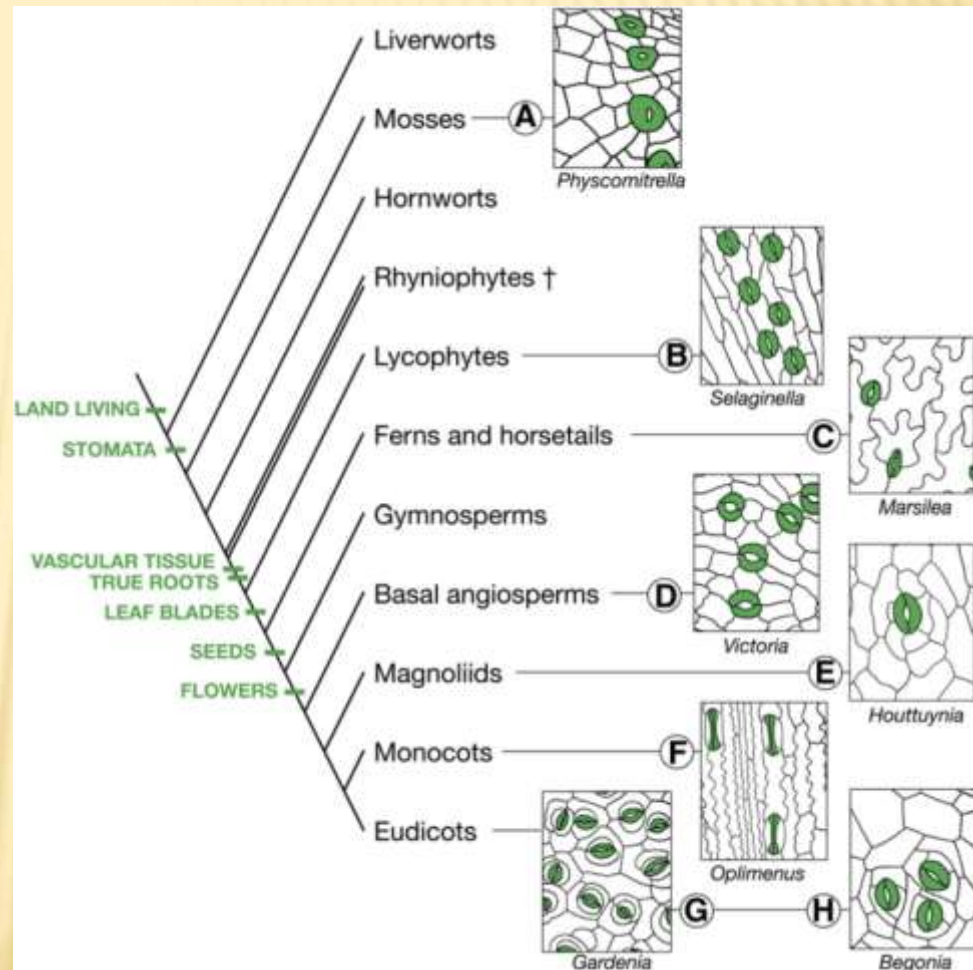


KAS ŽINOMA APIE ŽIOTELES?

- ✘ Transpiracija sukuria slėgio gradientą, dėl kurio vanduo su mineraliniais jonais juda ksilemos indais iš šaknų link lapų (transpiracijos srovė);
- ✘ Žiotelių kiekis, tankis, dydis ir išsidėstymas lapo paviršiuje priklauso nuo augalo rūšies;
- ✘ Žiotelių atsivėrimas priklauso nuo paros laiko: jos atsiveria ryte, užsiveria vakare.
- ✘ Žiotelių užsivėrimo greitis kinta nuo ~5-10 min. iki ~30-60 min.
- ✘ Žiotelių valdoma transpiracija priklauso nuo drėgmės kiekio ore ir dirvožemyje, temperatūros, šviesos, **CO₂ koncentracijos**.
- ✘ Įvairūs kiti aplinkos veiksniai (aplinkos teršalai, augalų ligos ir kt.) taip pat keičia žiotelių atsivėrimą.
- ✘ Atsparumas tam tikroms ligoms koreliuoja su žiotelių kiekiu ir/ar dydžiu.
- ✘ Net esant nekintančioms sąlygoms, nuolat vyksta žiotelių atsivėrimo osciliacijos.

SVARBIOS ŽINIOS APIE ŽIOTELES (1)

- ✘ Žiotelės išsivystė kaip prisitaikymui gyventi sausumoje būtina universali augalų struktūra, reguliuojanti drėgmės kiekį. Žiotelių pirmtakas nustatytas jau samanose (manoma kad prieš 400 mln. m).
- ✘ Žiotelių neturi tik kai kurie vandens augalai.
- ✘ Galima tirti herbaruose saugomų ir fosilinių augalų žioteles. Pvz., taip buvo nustatyta, kad klimato kaita (CO₂ emisijos) mažina žiotelių tankį.

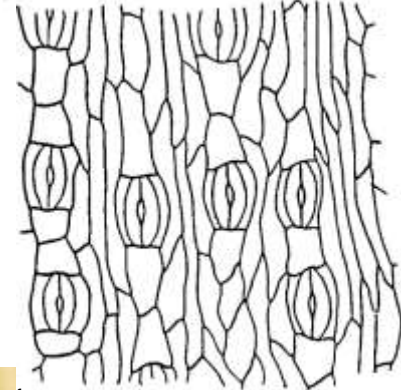
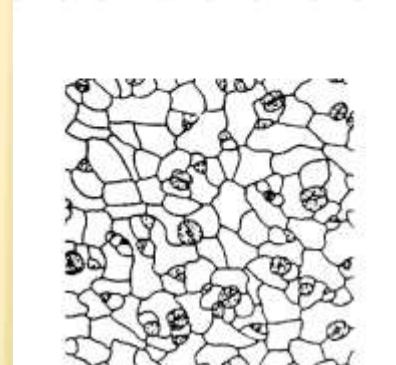
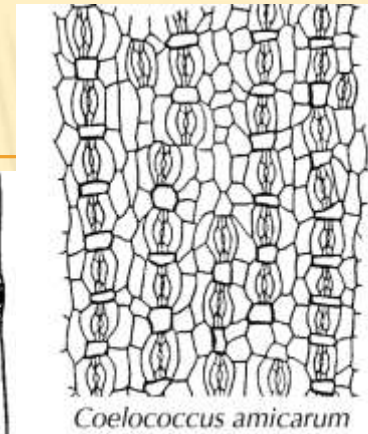
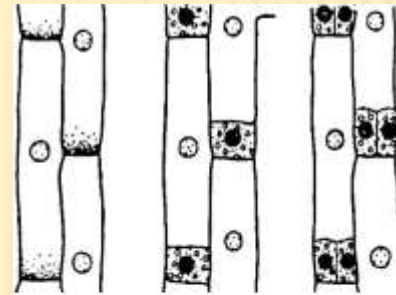
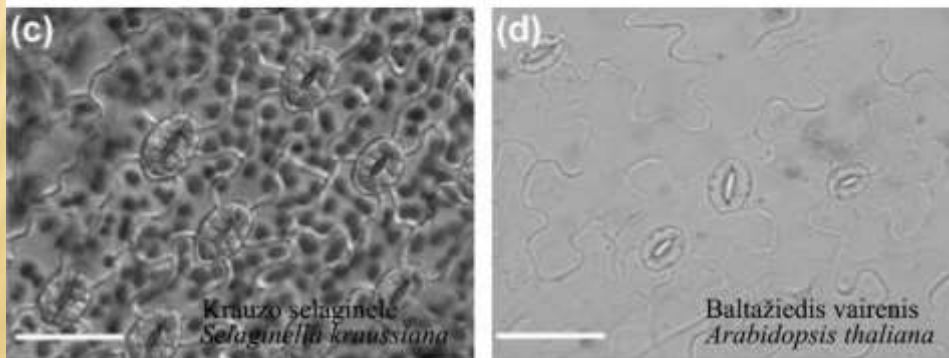
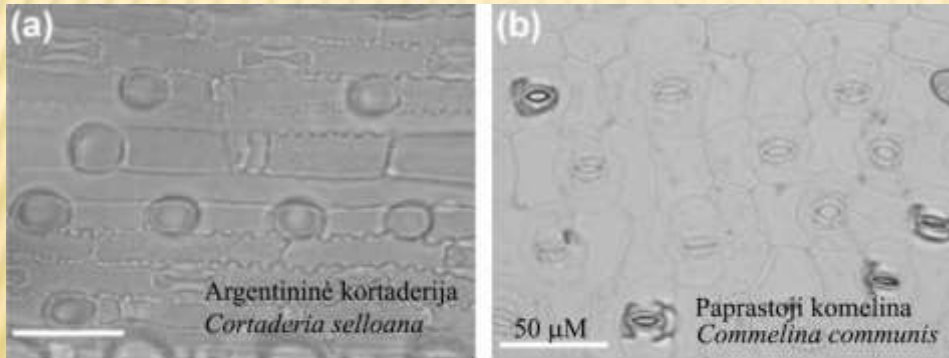


SVARBIOS ŽINIOS APIE ŽIOTELES (2)

✗ Žiotelių dydis, forma ir išsidėstymas priklauso nuo augalo rūšies.

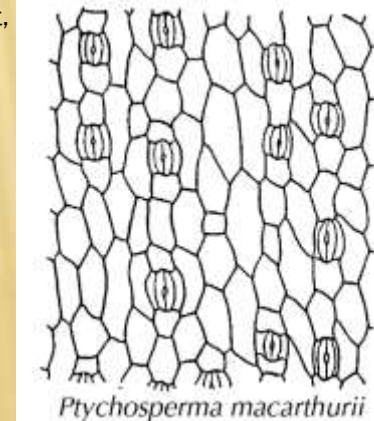
Atsižvelgiant į pagalbinių ląstelių (*subsidiary cells*) buvimą, žiotelės skirstomos į 3 grupes:

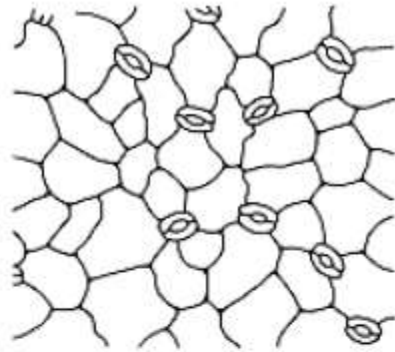
- 1) Neturi pagalbinių ląstelių
- 2) Turi 1 pagalbines ląsteles
- 3) Turi daugiau nei 1 pagalbines ląsteles (b)



J. Croxdale. Stomatal patterning in monocotyledons: *Tradescantia* as a model system. *J. Exp. Bot.* 199849, 279-292.

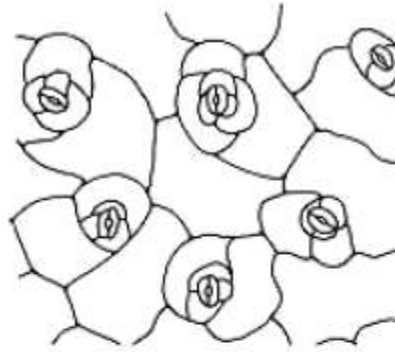
S. Casson, J.E. Gray. Influence of environmental factors on stomatal development. *New Phytologist* (2008) 178: 9-23





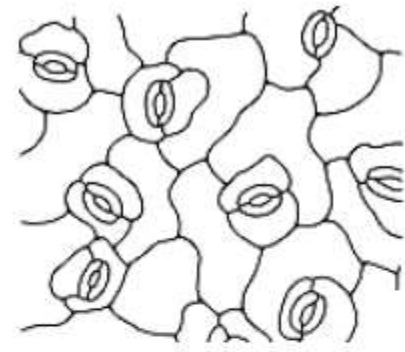
Citrullus – anomocytic

A



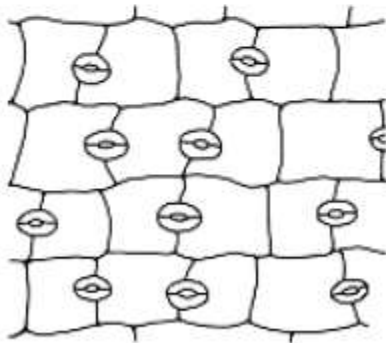
Sedum – anisocytic

B



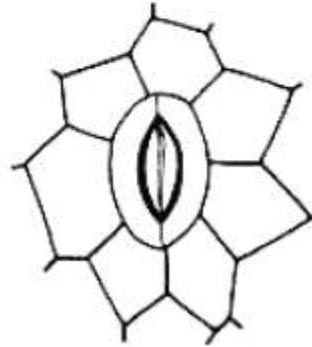
Vigna – paracytic

C



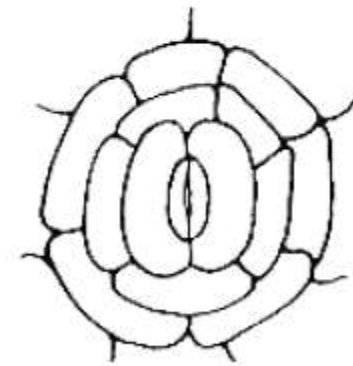
Dianthus – diacytic

D



Lannea – actinocytic

E



Schinopsis – cyclocytic

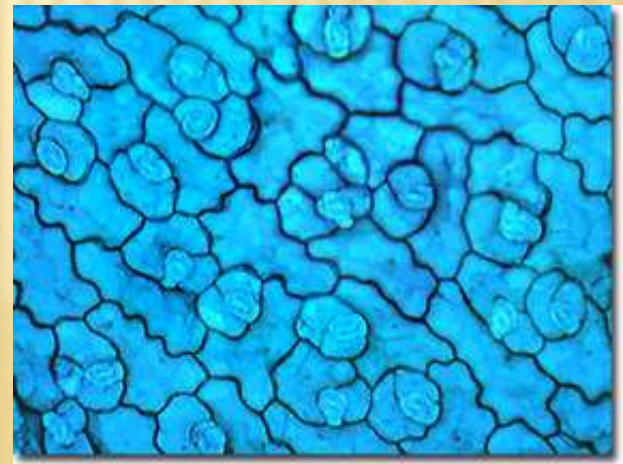
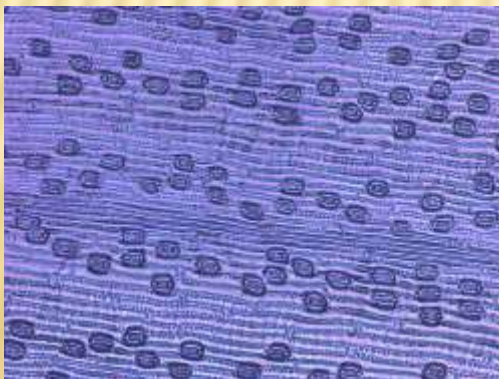
F

SVARBIOS ŽINIOS APIE ŽIOTELES (3)

Vertinant žiotelių kiekį augalų lapuose, taikomi du rodikliai:

žiotelių tankis ir žiotelių indeksas. Šiems rodikliams nustatyti reikia šviesinio mikroskopo x100.

- ✗ Žiotelių tankis (*SD, stomatal density*): žiotelių skaičius lapo paviršiaus ploto vienetu (dažniausiai n/mm^2);
- ✗ Tipinis tankis – 100-1000 žiotelių/ mm^2
- ✗ SD priklauso nuo lapo augimo tarpsnio, jaunų lapų jis yra didesnis, negu senesnių;
- ✗ Priežastis: žiotelės susiformuoja asimetrinio ląstelių dalijimosi būdu augant jauniems lapams. Lapo ląstelių skaičius nustoja didėti lapams pasiekus 40-60% dydžio. Toliau lapas auga tik plečiantis jau esamoms ląstelėms, todėl žiotelių tankis mažėja;
- ✗ Todėl negalima lyginti žiotelių tankio skirtingo vystymosi tarpsnio lapuose.
- ✗ Žiotelių indeksas (*SI, stomatal index*): žiotelių skaičiaus santykis su visų ląstelių skaičiumi.
- ✗ SI nepriklauso nuo lapų vystymosi tarpsnio.
- ✗ SI pasiūlė taikyti Salisbury, 1927 m.
- ✗ $SI = SD/SD+ED$,
kur ED yra epidermio ląstelių tankis.



SVARBIOŠ ŽINIOS APIE ŽIOTELES (4)

Vertinant žiotelių būseną augalų lapuose, galima nustatyti žiotelių dydį ir jų atsivėrimo laipsnį. Tokiems tyrimams reikia šviesinio mikroskopo su fotokamera ir kompiuterine programa, kuria galima atlikti matavimus mikroskopinio vaizdo nuotraukose. Didinimui pakanka x100

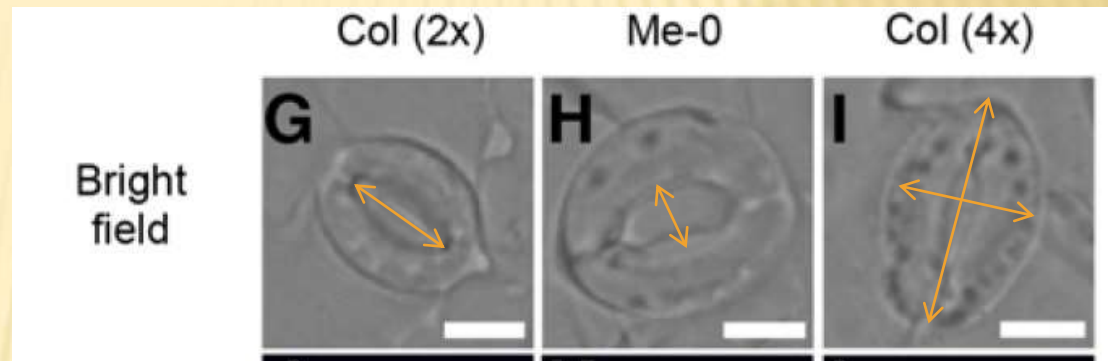
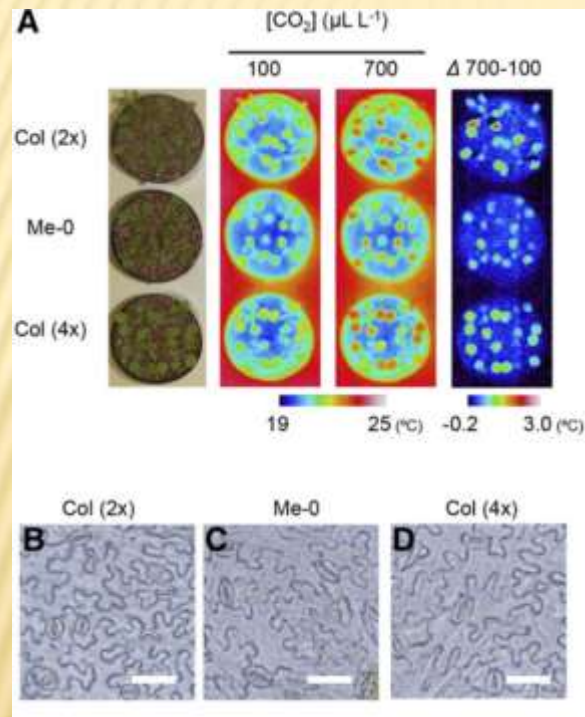


Table 1. Summary of stomatal characteristics and anatomical g_{max} in *Arabidopsis* accessions

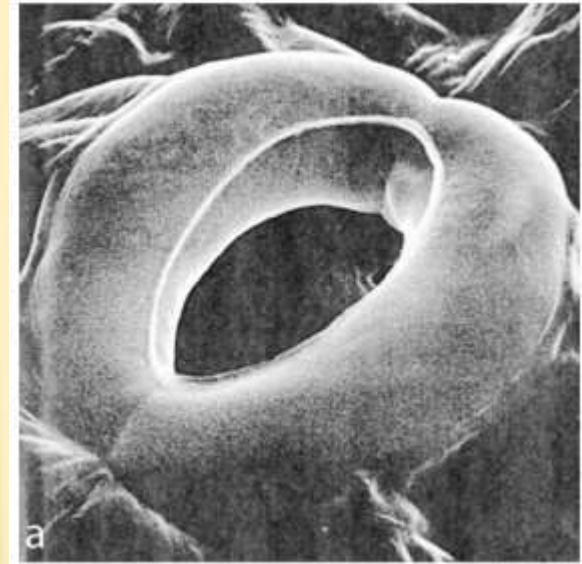
Values are means \pm SE. Each value represents the combined data for abaxial and adaxial stomata. Values marked with different letters are significantly different among accessions ($P < 0.05$, Tukey's test).

Ecotype	Anatomical g_{max}	Maximum Pore Area	Stomatal Density	Total Pore Area per Unit of Leaf Area	Pore Length	Pore Depth (Guard Cell Width)
	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	μm^2	mm^{-2}	%	μm	
Diploid Col	384.71 \pm 20.38 a	26.13 \pm 1.80 a	182.13 \pm 7.12 a	0.48 \pm 0.03 a	7.79 \pm 0.26 a	7.84 \pm 0.10 a
Me-0	531.64 \pm 25.91 b	93.52 \pm 5.92 b	104.15 \pm 3.46 b	0.97 \pm 0.06 b	14.87 \pm 0.50 b	9.82 \pm 0.14 b
Tetraploid Col	485.03 \pm 26.33 b	71.59 \pm 4.96 c	115.38 \pm 4.28 b	0.83 \pm 0.06 b	13.00 \pm 0.45 c	9.63 \pm 0.14 b

K. Monda et al., Enhanced Stomatal Conductance by a Spontaneous *Arabidopsis* Tetraploid, Me-0, Results from Increased Stomatal Size and Greater Stomatal Aperture. *Plant Physiology* 2016, 170,1435–1444

DARBUI REIKALINGOS PRIEMONĖS:

- ✗ Tiriamų augalų lapai,
- ✗ Permatomas nagų lakas,
- ✗ Žirkklės,
- ✗ Pincetas,
- ✗ Permatoma lipni juosta,
- ✗ Šviesinis mikroskopas,
- ✗ Mikroskopavimo stikleliai
- ✗ (±mikroskopo fotokamera ir Motic programa)



TYRIMŲ OBJEKTAS

1. *Dviejų rūšių tradeskantijos*
2. *Laikytos šviesoje*
3. *Laikytos tamsoje*



ŽIOTELIŲ ATSPAUDŲ (SUROGATINIŲ ŽIOTELIŲ) PARUOŠIMAS, ŽIOTELIŲ RODIKLIŲ SD IR SI ĮVERTINIMAS.

1. Pasirinkite augalo lapą, kurio žiotelių atspaudus norite gauti.
2. Užtepkite storą skaidraus nagų lako sluoksnį ant tos lapo pusės, kurios žiotelių atspaudus norite gauti.
3. Kelias minutes palaukite, kol lakas išdžius. Per tą laiką žirkėmis atkirpkite nedidelę švarios permatomos lipnios juosteles (skirtos pakuotėms sandarinti) stačiakampę atkarpą.
4. Prilipinkite lipnią juostelę prie nulakuoto lapo paviršiaus.
5. Švelniai atskirkite lipnią juostelę su lako sluoksniu nuo lapo paviršiaus. Juosteles lipnioje pusėje turi likti lapo paviršiaus atspaudas lake.
6. Ant nelipnios juostelės dalies, kurios nedengia atspaudas, galite užrašyti kodinį pavyzdžio pavadinimą.
7. Uždėkite juostelę su lapo atspaudu ant švaraus mikroskopavimo stiklelio.
8. Padėkite mikroskopavimo stiklį ant mikroskopo staliuko ir sufokusuokite vaizdą, naudodami x10 objektyvą. Apžiūrėkite visą atspaudų plotą, judindami stiklį tam skirtu rėmeliu. Pasirinkite tinkamą skaičiavimui lauką, kuriame nėra burbulų, šiukšlių, pažeidimų, didesnių augalo lapo gyslų.
9. Skaičiuokite 5 vienoduose laukeliuose esančias žioteles ir epidermio ląsteles. Gautą rezultatą užrašykite į duomenų registracijos lentelę.
10. Įvertinkite tikslų laukelio dydį mm^2 , pasirinkę tinkamą objektą atstumo kalibravimui.
11. Pakartokite tokius matavimus iš viso su 3 lapo atspaudais.
12. Apskaičiuokite SD ir SI ir juos palyginkite (kiekvienam atspaudui ir laukeliui).

UŽDUOTYS PRAKTINIAM DARBUI:

Siūlymas sudaryti 3-4 dalyvių komandas

Eil. Nr.	Veikla	Skirtas laikas, min.
1	<i>Pasirinkti tikrinamą hipotezę ir sudaryti tyrimo planą</i>	15
2	<i>Atlikti tyrimą ir suregistruoti jo rezultatus</i>	90
3	<i>Pateikti rezultatus jų analizei patogiu būdu</i>	30
4	<i>Suformuluoti pagrįstas tyrimo išvadas</i>	15
5	<i>Parengti glaustą tyrimo pristatymą</i>	30
6	<i>Pristatyti tyrimą kolegoms.</i>	30
7	<i>Praktinės dalies aptarimas - diskusija</i>	30

Papildomos informacijos nuorodos:

<http://www.saps.org.uk/secondary/teaching-reso>

http://www.esa.org/tiee/vol/v1/experiments/stomata/stomata_description.htmlurces/299-measuring-stomatal-density

<http://www.eoearth.org/view/article/156262>