



# Odla växter med defekter



Text: Britt-Marie Lidesten

*I biologiundervisningen hör det till att använda levande material – det som växer och utvecklas brukar väcka elevernas intresse. Här tittar vi närmare på mutanter hos ett par växtarter som elever kan odla och undersöka.*

Även om individer hör till samma växtart kan de variera beroende på miljöpåverkan eller genetiska skillnader. De växter vi ska studera lite närmare har mutationer som rör bildningen av antingen stärkelse eller cyanid. Växterna är inte genmodifierade, varianterna har uppstått efter behandling med en mutationsframkallande kemikalie.

På Det Natur- og Biovidenskabelige Fakultet, Københavns Universitet, har man utvecklat försök med växter för gymnasienivå. Även svenska skolor kan beställa material till försöken, eventuellt till en mindre kostnad. Sök efter *Tjek på Biotek* på Internet för att hitta fullständiga försöksbeskrivningar och beställningsformulär. I ett försök, som beskrivs nedan, används backtrav och i ett annat en art som liknar käringtand. Tjek på Biotek har även växtmaterial som är genmodifierat, avsett för danska gymnasieskolor, men det är inte tillåtet att använda i Sverige.

Samma typer av genetiska förändringar som finns hos växterna i försöken kan mycket väl åstadkommas med gentekniska metoder. Försöken kan därför fungera som utgångspunkt för att diskutera användningen av genmodifierade växter.

## Kriga med cyanid

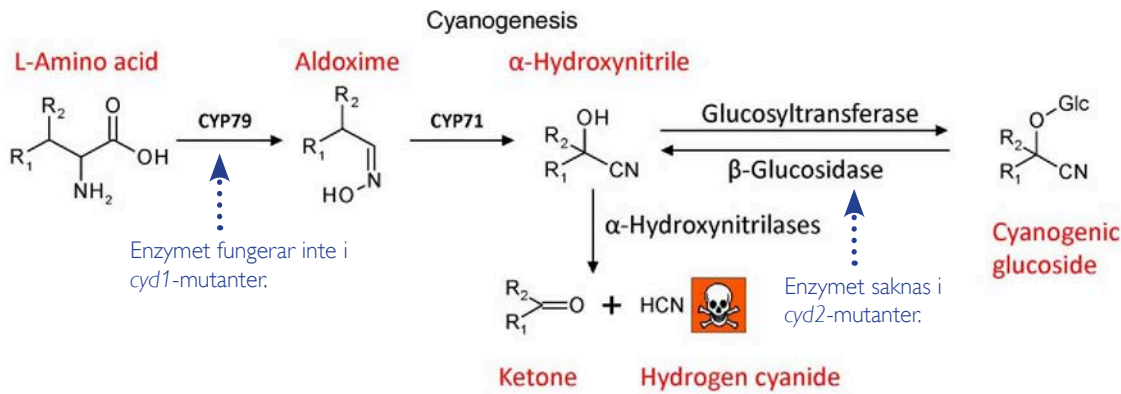
Vätecyanid är en mycket giftig gas som har använts för bekämpning av vägglöss. Men männis-

kan var inte först med att använda vätecyanid som bekämpningsmedel mot insekter. Vissa växter, som exempelvis populationer av vitklöver, har en naturlig produktion av cyanogena glykosider, som omvandlas till vätecyanid om växten skadas. Vätecyanid kan också bildas i kärnor från äpplen, plommon och aprikos. Ett annat exempel är bittermandel, som endast ska användas i begränsad mängd vid smaksättning av bakverk eftersom vätecyanid utvecklas. I försöket används *Lotus japonicus* (bild ovan), en modellorganism för studier av ärtväxter. Arten är mycket lik käringtand, *Lotus corniculatus* L. Efter sådd tar det minst tre veckor för plantorna att utvecklas innan de kan användas till försöket.

Figuren på nästa sida visar syntesvägen för cyanogena glukosider i växter. När växtätande djur skadar ett blad frigörs cyanogena glukosider och kommer i kontakt med enzymer som kallas  $\beta$ -glukosidaser. Dessa enzymer tar bort glukosmolekylen och den instabila föreningen som bildas faller sönder och bildar vätecyanid. Giftverkan beror på att vätecyanid påverkar andningskedjan och förhindrar att ATP bildas.

I försöket används vildtyp och två mutanter. Den ena mutanten (*cyd1*) har defekt CYP79-enzym och den andra (*cyd2*) saknar  $\beta$ -glukosidas (figur nästa sida). Ingen av mutanterna kan producera vätecyanid. Bildningen av vätecyanid detekteras med Feigl-Anger-papper som färgas blått vid kontakt med vätecyanid. Pappret ingår i det kit som distribueras av Tjek på Biotek.

I en mikrotiterplatta placeras blad från de tre varianterna i varsin brunn med buffert. Dessutom läggs blad från båda mutanttyperna tillsammans i en separat brunn. Bladen mals sönder, Feigl-Anger-papper placeras ovanpå brunnarna och ett



Se förklaring till figuren i högerspalten sidan 14.

Källa: Möller BL (2010) Functional diversification of cyanogenic glucosides. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 338-347, återges med tillstånd från Elsevier

lock läggs överst. Efter ett par timmar indikerar blå fläckar på pappret bildning av vätecyanid.

Resultatet tolkas utifrån figuren ovan. Vilket resultat bör det bli det för den brunn som innehåller blad av båda mutanttyperna?

## Stärkelsemutanter hos backtrav

I försöket används backtrav, *Arabidopsis thaliana*, som är en välundersökt modellorganism och den första växten vars genom sekvenserades, vilket skedde redan år 2000. Det tar fem till sex veckor för plantorna att utvecklas från frön.

I detta försök studeras stärkelseinnehållet i blad från backtrav genom att färga med jod. Stärkelse bildas i växtceller som upplagsnäring och lagras i stärkelsekorn. Molekylerna byggs upp av glukosenheter som binds samman i långa kedjor med mer eller mindre stort antal tvärbindingar.

Försöket går ut på att ta reda på hur mycket stärkelse det finns relativt sett i bladen från tre varianter av backtrav. Jämförelse mellan plantor som stått i ljus respektive mörker görs också. Eleverna kan förutsättningslöst genomföra laborationen och sedan tolka resultatet utifrån vad de kan ta reda på om de specifika generna genom att söka i databasen för *Arabidopsis*, [www.arabidopsis.org](http://www.arabidopsis.org). De tre genetiska varianterna är vildtyp, *pgm1* med mutation i stärkelsesyntesen och *gwd1* (*sex1*) med mutation i stärkelsenedbrytningen.

Hälften av plantorna från vardera varianten täcks med aluminiumfolie ett dygn innan testet ska genomföras. Den andra hälften av plantor-

na ska stå ljus åtminstone några timmar innan testet. Därefter extraheras de naturliga färgpigmenten ur bladen med etanol, varefter de behandlas med jodlösning för att påvisa stärkelse.

## Mikroskopstudier och Mendel

Titta också gärna på stärkelsekorn i mikroskop vid tillsats av jod. Jämför till exempel storlek och form hos korn från potatis och från majs (maizena-mjöl). Skillnaden i stärkelseinnehåll i mogna och omogna frukter som bananer, äpplen och päron kan också studeras.

En intressant koppling till detta är de klassiska korsningsförsök som Georg Mendel genomförde med släta och skrynkliga ärtor. Skrynkliga ärtor har sämre enzymaktivitet för bildning av stärkelse och dessutom bildas mindre andel grenade stärkelsemolekyler. Eftersom stärkelsesyntesen inte fungerar normalt kommer istället socker att lagras och vatteninnehållet blir högre. När ärtorna mognar förlorar de mycket vatten och blir skrynkliga. Ett exempel är mägärt. Hos dessa ärtor har genen för ett stärkelsebildande enzym skadats av att en sekvens med 800 baspar hamnat inne i genen. En transposon, "hoppande gen", är en rörlig DNA-sekvens som kan förflyttas från en plats i en kromosom till en annan plats i samma kromosom eller i en annan kromosom. Transposoner kan på detta sätt skada gener och ge upphov till defekter. På Bioresurs hemsida finns en utförlig beskrivning av olika försök med ärtor, sök på "Ärtor" i den interna sökmotorn.



Försök med stärkelsemutanter av *Arabidopsis*. Klorofyll har först extraherats ur bladen, som därefter har behandlats med jodlösning.

1. Bladen av vildtyp visar att stärkelse (upplagsnäring) bryts ner i mörker.
2. Mutanttyp *pgm1* kan inte bilda stärkelse.
3. Mutanttyp *gwd1* bildar stärkelse, men kan inte bryta ner den.



*Arabidopsis thaliana*, backtrav