

POLITECHNIKA ŚLĄSKA
WYDZIAŁ CHEMICZNY

KATEDRA FIZYKOCHEMII I TECHNOLOGII
POLIMERÓW

LABORATORIUM Z FIZYKI
I BIOFIZYKI

Wpływ auksyn na wzrost roślin

14.1. Wprowadzenie

14.1.2. Wzrost roślin

Wzrost i rozwój roślin odbywa się w wyniku skoordynowanego działania czynników wewnętrznych i środowiskowych na metabolizm oraz realizację ich programu genetycznego. Czynniki te mogą mieć charakter abiotyczny (fizyczny, chemiczny) lub biotyczny. Do najistotniejszych czynników abiotycznych zalicza się światło, temperaturę, pole grawitacyjne, oraz dostępność wody i składników mineralnych podłoża oraz atmosfery. Wpływ wszystkich tych czynników na rośliny ma charakter kompleksowy.

Z terminem określanym jako wzrost wiążą się dwa inne, niezbędne do opisu tego procesu: pomiar oraz jego opis ilościowy. Istnieje wiele metod pomiaru wzrostu. Mogą one polegać na określeniu długości, średnicy lub objętości. Często stosowanym przez eksperymentatorów jest szacowanie świeżej lub/i suchej masy badanego organizmu bądź zawartego w nim całkowitego białka czy kwasów nukleinowych. Wybór metody zależy od tego, jaki proces związany ze wzrostem podlega badaniom.

Użycie metody ilościowego opisu wzrostu zależy od specyfiki badanego organizmu. Inaczej proces ten opisuje się w przypadku organizmów jedno- lub wielokomórkowych.

W przypadku większości organów roślin wyższych, takich jak korzenie pierwotne, koleoptyle, epikotyle, hipokotyle, międzywęzła, liście czy owoce wyróżnić można 4 fazy rozwojowe:

- a) faza pierwsza – niewielki wzrost liczby komórek
- b) faza druga – logarytmiczny wzrost populacji komórkowej
- c) faza trzecia – spadek wzrostu liczby komórek
- d) faza czwarta – zahamowanie wzrostu populacji komórkowej

Zmniejszenie szybkości, a następnie zahamowanie wzrostu wiąże się z wyczerpywaniem w środowisku substancji odżywczych oraz z akumulacją metabolitów wtórnych i inhibitorów wzrostu.

Nie wszystkie części organów roślinnych wykazują podobną szybkość wydłużania. W przypadku korzeni i pędów najintensywniejszy wzrost obserwuje się w strefie podwierzchołkowej, nazywanej również strefą wzrostu lub wydłużania się.

Wzrostowi komórki w obrębie tkanek towarzyszy rozluźnianie struktury ściany komórkowej oraz odkładanie nowego materiału pomiędzy już istniejącymi jej elementami. Proces ten stymuluje auksyna.

14.1.3. Rodzaje i rola hormonów roślinnych

W roślinach występują substancje, nazywane regulatorami wzrostu i rozwoju roślin, których podstawową rolą jest funkcja regulacyjna. Regulatory wzrostu są związkami małowcząsteczkowymi, o bardzo zróżnicowanej budowie chemicznej, zdolnymi do przemieszczania się w roślinie. Wśród nich na szczególną uwagę zasługują substancje zwane hormonami roślinnymi. Różnią się one od innych regulatorów dwiema cechami. Po pierwsze – hormony są aktywne w wyjątkowo małych stężeniach. Drugą cechą hormonów jest powszechność ich występowania i aktywności w roślinach.

Poznano dotąd sześć klas hormonów roślinnych:

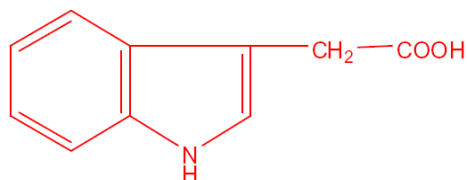
- a) auksyny, regulujące procesy: wzrost wydłużeniowy komórek, ukorzenianie, ruchy roślin, dojrzewanie owoców, starzenie się.
- b) gibereliny, uczestniczący w regulacji wzrostu, spoczynku, kiełkowania nasion, kwitnienia, zawiązywania owoców.
- c) cytokininy, regulujące procesy: podziałów komórkowych, różnicowania komórek, wzrostu, spoczynku, transportu asymilatów oraz starzenia się.
- d) seskwiterpenty hamujące wzrost, kiełkowanie itp. Uczestniczy w regulacji wzrostu, spoczynku, morfogenezy, opadania owoców i liści, starzenia się oraz reakcji na czynniki stresowe.
- e) jasmonidy są zaangażowane w regulacji wzrostu, kiełkowania, morfogenezy i starzenia się, a także reakcji rośliny na stresy.
- f) brasinosteroidy uczestniczące w regulacji wielu procesów, jak wzrost i rozwój, fotosynteza, niektóre przemiany metaboliczne oraz reakcje roślin na stresy i infekcje.

Hormony roślinne wykazują działanie plejotropowe - każdy z nich uczestniczy w regulacji wielu procesów fizjologicznych. Co więcej, w regulacji każdego procesu fizjologicznego bierze udział zespół hormonów, w którym zazwyczaj można wyróżnić hormony pełniące rolę dominującą oraz hormony współdziałające. W zespole takim

uczestniczą hormony stymulujące obok hamujących przebieg danego procesu. Można, zatem mówić o równowadze hormonalnej sterującej procesem.

14.1.4. Auksyny

Auksyny są to związki organiczne, które charakteryzuje zdolność wywoływania wzrostu elongacyjnego (wydłużeniowego) komórek łodygi. Najpospolitszą naturalną auksyną wszystkich roślin wyższych jest kwas indolilo-3-octowy.



kwas indolilo-3-octowy (IAA)

Poza kwasem indolilo-3-octowym znane są inne auksyny indolowe (jak nityl kwasu indoliloctowego), a także auksyny nieindolowe (np. kwas fenilooctowy).

Auksyny tworzą się przede wszystkim w pąkach wierzchołkowych oraz w najmłodszych liściach i tam zwykle jest ich najwyższe stężenie. W kierunku od wierzchołka do podstawy rośliny transport auksyn jest bardzo szybki – prawdopodobnie jest to transport aktywny - wymaga, bowiem obecności cukrów i tlenu a więc energii uwalnianej w procesie oddychania. W kierunku przeciwnym natomiast tj. od podstawy łodygi do jej wierzchołka zachodzi wolno, zgodnie z prawami dyfuzji.

14.1.5. Mechanizmy działania hormonów

Prześledzenie kinetyki reakcji rośliny na hormon podany z zewnątrz, pozwoliło wyróżnić dwie fazy wzrostu rośliny:

- a) faza pierwsza – szybkie odpowiedzi.
- b) faza druga – powolne odpowiedzi.

Faza pierwsza rozpoczyna się kilka minut po podaniu hormonu, gdy dotrze on do komórki docelowej i zwiąże się z receptorem. Szybkie odpowiedzi są wynikiem zmian konformacyjnych receptora wywołanych obecnością hormonu.

Do najlepiej poznanych szybkich odpowiedzi na hormony należy regulacja transportu jonów przez błony. W wielu tkankach (koleoptyl, łodyga) auksyna powoduje wzrost komórek przez osłabienie wiązań między składnikami ściany (takimi, jak mikrofibryle celulozowe, pektyny, hemicelulozy itp.). Równocześnie obserwuje się zmniejszenie pH apoplastu. Receptor IAA po związaniu z hormonem nabiera właściwości pompy protonowej, zasilanej energią metaboliczną (ATP). Pompa (receptor IAA) znajdująca się w błonie siateczki śródplazmatycznej (ER) przemieszcza protony do światła ER, a powstające pęcherzyki ER przenoszą do błony komórkowej swoją kwaśną zawartość. Obniżenie pH ściany powoduje zerwanie (osłabienie) niekowalencyjnych wiązań między niektórymi składnikami ściany oraz aktywację pewnych enzymów hydrolitycznych. Proces ten prowadzi do rozluźnienia ściany komórkowej, zmniejszenia ciśnienia turgorowego, a w konsekwencji do wzrostu komórki.

Długotrwałe odpowiedzi roślin na hormony (faza druga) powstają w wyniku zmian ilości specyficznych białek komórkowych. Modyfikacja ta może być wynikiem indukcji lub zablokowania syntezy niektórych białek, zmian struktury już istniejących białek, lub też zmiany intensywności degradacji tych białek.

14.2. Pomiary

14.2.1. Kielkowanie nasion kukurydzy/owsa

Odważoną porcję nasion kukurydzy/owsa moczyć w wodzie wodociągowej przez 24 godziny. Namoczone nasiona wysiewać na podłożu z ligniny nasyconym wodą wodociągową. Kulturę prowadzić w ciemności w temperaturze 27-30°C przez 48 godzin.

14.2.2. Przygotowanie segmentów koleoptyli kukurydzy/owsa

Z etiolowanych siewek kukurydzy/owsa należy wybrać 70 dobrze wykształconych, prostych koleoptyli o długości 2 – 3 cm. Koleoptyle należy odciąć przy podstawie i ułożyć w rzędzie (zwrócone wierzchołkami w jednym kierunku) na szkiełku leżącym na papierze milimetrowym. W odległości 3 mm od wierzchołka wyciąć żyłką odcinki koleoptyli o długości 10 mm. Z każdego segmentu koleoptyla za pomocą igły preparacyjnej usunąć pierwszy liść.

14.2.3. Oznaczanie stężenia auksyny w nieznanym roztworze

Otrzymane, równe segmenty koleoptyli umieścić w probówce falcone wypełnionej wodą destylowaną. Probówkę wytrząsać przez 30 min, po czym wyjąć z nich fragmenty koleoptyli i umieścić (po 10 sztuk) na szalkach zawierających odpowiednią ilość następujących roztworów:

Roztwór I: woda

Roztwór II: IAA – 0,01 [mg/l]

Roztwór III: IAA – 0,1 [mg/l]

Roztwór IV: IAA – 1,0 [mg/l]

Roztwór V: IAA – 10 [mg/l]

Roztwór VI: IAA – 100 [mg/l]

Roztwór VII: IAA o nieznanym stężeniu

Poszczególne roztwory kwasu indolilo – 3 octowego (IAA) przygotować rozcieńczając 10 – krotnie roztwór poprzedni, rozpoczynając od roztworu 100 [mg/l].

Szalki z cylinderkami należy przenieść do ciemnego miejsca. Po 24 i 48 godzinach zmierzyć z dokładnością do 1 mm długość koleoptyli.

14.3 Wyniki, obliczenia i niepewność pomiaru

- Na podstawie zmierzonych długości wycinków koleoptyli obliczyć średnią dla każdego stężenia IAA. Wyniki umieścić w tabeli:

Stężenie IAA [mg/l]	Długość poszczególnych koleoptyli [mm]										Średnia [mm]
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0											
0,01											
0,1											
1											
10											
100											
x											

2. Sporządzić wykres zależności wzrostu koleoptyli od stężenia auksyn. Z otrzymanej krzywej wzorcowej odczytać stężenie auksyny w nieznannej próbie x.
3. Przeprowadzić analizę błędów metodą obliczenia niepewności. Końcowy wynik należy podać w postaci:

$$c_{IAA} = c_{IAA} \pm dc_{IAA} \quad (14.1)$$

14.4 Pytania

1. Budowa komórki roślinnej.
2. Rodzaje i rola hormonów roślinnych.
3. Transport hormonów.
4. Mechanizmy działania hormonów.
5. Budowa i działanie auksyny.
6. Mechanizmy wzrostu i rozwoju roślin
7. Kiełkowanie nasion.

14.5. Literatura

1. Kopcewicz J., Lewak S., Fizjologia roślin, PWN, Warszawa, 2007.
2. Szweykowska A., Szweykowski J., Botanika, PWN, Warszawa, 2008.
3. Bieñkowska-Mochtak E., Zastosowanie kultur in vitro w uprawie i hodowli roślin. PWN, Warszawa, 1981.
4. Kopcewicz J., Lewak S., Podstawy fizjologii roślin, PWN, Warszawa, 1998.
5. Szweykowska A., Fizjologia roślin, UAM, Poznań, 1998.
6. Hopkins W.G., Introduction to Plant Physiology, John Wiley & Sons, 2008.