

<https://doi.org/10.18778/8220-012-6.09>

ROZDZIAŁ IX. **AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA
REGULATORÓW WZROSTU ROŚLIN**

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Regulatory wzrostu są to związki organiczne, zdolne do przemieszczania się w roślinie, które pobudzają, hamują lub w inny sposób wpływają na procesy wzrostu i rozwoju roślin. W obrębie regulatorów wzrostu wyróżniamy **hormony roślinne** (fitohormony) oraz pozostałe regulatory, nazywane substancjami wzrostowymi. Hormony powszechnie występują w roślinach i są aktywne w bardzo niskich stężeniach (rzędu 10^{-6} M). Zaliczamy do nich m.in. **auksyny, gibbereliny, cytokiny, etylen i kwas abscysynowy**. W przeciwieństwie do hormonów występowanie i aktywność biologiczna substancji wzrostowych jest często ograniczona do wąskiej grupy taksonomicznej. Ponadto wywołują one efekt fizjologiczny w stężeniach znacznie wyższych niż hormony roślinne (powyżej 10^{-4} M). Do substancji wzrostowych należą zarówno związki naturalne (np. poliaminy, związki aromatyczne), jak i syntetyczne (retardanty, morfaktyny, herbicydy). Poniżej podano najważniejsze efekty działania na rośliny podstawowych grup regulatorów wzrostu.

AUKSYNY

1. Stymulacja podziałów komórkowych, zwłaszcza kariokinezy.
2. Stymulacja wzrostu elongacyjnego komórek.
3. Wywoływanie zjawiska dominacji wierzchołkowej.
4. Indukcja wytwarzania korzeni przybyszowych.
5. Wywoływanie partenokarpii.
6. Zapobieganie opadaniu liści i owoców poprzez hamowanie powstawania warstwy odcinającej.
7. Wywoływanie tropizmów.

Przykłady auksyn:

- a)** auksyny naturalne: IAA (kwas indolilo-3-octowy), IBA (kwas indolilo-3-masłowy),
- b)** auksyny syntetyczne: NAA (kwas naftylo-1-octowy), 2,4-D (kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy).

CYTOKININY

1. Stymulacja podziałów komórkowych, a zwłaszcza cytokinezy.
2. Zwiększanie rozmiarów i masy komórek.
3. Hamowanie procesów starzenia.
4. Stymulacja kiełkowania nasion.
5. Stymulacja rozwoju pąków bocznych poprzez znoszenie dominacji wierzchołkowej.
6. Pobudzanie różnicowania się komórek i organogenezy.

Przykłady cytokinin:

- a)** cytokininy naturalne: zeatyna (6-dimetyloalliloaminopuryna),
- b)** cytokininy syntetyczne: kinetyna (6-furfuryloaminopuryna), BAP (6-benzyloaminopuryna).

GIBERELINY

1. Stymulacja wydłużania pędów poprzez pobudzenie wydłużania międzywęźli.
2. Przywracanie normalnego wzrostu karłowatym mutantom.
3. Stymulacja kiełkowania poprzez indukcję aktywności enzymów hydrolizujących substancje zapasowe nasiona.
4. Stymulacja kwitnienia.
5. Wytwarzanie owoców partenokarpicznych.

Przykłady giberelin: GA₁, GA₃ (kwas giberelowy).

ETYLEN

1. Stymulacja starzenia się liści i kwiatów.
2. Indukowanie opadania liści.
3. Pobudzanie dojrzewania owoców klimakterycznych.

RETARDANTY

Są to związki syntetyczne, które powodują hamowanie wzrostu elongacyjnego pędów poprzez skracanie międzywęźli, bez powodowania innych deformacji (wywołują karłowacenie roślin).

Przykłady retardantów: CCC (chlorek chlorocholiny).

HERBICYDY

Są to związki syntetyczne, które służą do niszczenia chwastów. Dzieli się na herbicydy totalne (niszczą wszystkie rośliny na terenie, na którym zostały zastosowane) i selektywne (niszczą tylko określone grupy roślin). Ze względu na sposób działania na rośliny herbicydy możemy podzielić na kontaktowe (niszczą tylko tkanki, z którymi mają bezpośredni kontakt) i systemiczne (wnikają przez liście, a dzięki temu, że są łatwo transportowane, penetrują i niszczą całą roślinę).

Przykłady herbicydów:

- a)** herbicydy selektywne: Pielik (substancją aktywną jest 2,4-D),
- b)** herbicydy totalne: Roundup (substancją aktywną jest glifosat).

CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

Cel ćwiczenia

Zapoznanie z właściwościami hormonów i substancji wzrostowych roślin oraz ich praktycznym zastosowaniem.

Doświadczenie I

Wpływ IAA na wzrost pędu grochu

Zasada metody

Auksyny stymulują wzrost wydłużeniowy komórek. Nierównomierne rozmieszczenie auksyn po obydwu stronach pędu powoduje jego wygięcie.

Materiał

siedmiodniowe siewki grochu uprawiane w doniczkach z podłożem ogrodniczym

Odczynniki

pasta lanolinowa zawierająca IAA (50 g lanoliny podgrzać w parownicze, dodać 50 mg IAA rozpuszczonego w małej ilości etanolu, ucierać 10 minut)

Sprzęt laboratoryjny

cienka bagietka, ciepłarka

Wykonanie doświadczenia

Siewki grochu znajdujące się w doniczce podzielić na 2 grupy:

- a) siewki kontrolne,
- b) siewki traktowane IAA – pędy siewek z jednej strony posmarować pastą lanolinową zawierającą IAA.

Rośliny wstawić do ciepłarki o temperaturze 25°C na 3 godziny.

Opracowanie wyników

Opisać wygląd siewek i wyjaśnić przyczyny zaobserwowanych zmian.

Doświadczenie II

Wpływ IAA na wzrost korzenia rzeżuchy

Zasada metody

Auksyny stymulują wzrost wydłużeniowy komórek. Korzenie są organami bardzo wrażliwymi na działanie auksyn. Ich wydłużanie jest stymulowane przez niskie stężenia auksyn, natomiast wysokie stężenia tych hormonów mogą hamować wzrost korzeni.

Materiał

nasiona rzeżuchy

Odczynniki

roztwór IAA o stężeniach: 0,002; 0,2 i 20 mg dm⁻³, roztwór penicyliny o stężeniu 5 mg cm⁻³

Sprzęt laboratoryjny

4 szalki Petriego o średnicy 9 cm, pipety (0,1–10 cm³), cieplarka

Wykonanie doświadczenia

Do 4 szalek Petriego włożyć po 2 krążki bibuły filtracyjnej i wlać po 8 cm³ odpowiednich roztworów:

- a) H₂O destylowana (kontrola),
- b) IAA 0,002 mg dm⁻³,
- c) IAA 0,2 mg dm⁻³,
- d) IAA 20 mg dm⁻³.

W każdej szalce ułożyć po kilkanaście nasion rzeżuchy i dodać po 0,1 cm³ roztworu penicyliny. Szalki umieścić w cieplarni o temperaturze 25°C.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach hodowli zmierzyć długość korzeni 10 siewek z każdej szalki i obliczyć średnią dla każdego wariantu. Wyniki wpisać do tabeli 9.1. Obliczyć % kontroli, przyjmując długość korzenia siewek hodowanych na szalce z H₂O za 100%.

Tabela 9.1. Wpływ IAA na wzrost korzenia rzeżuchy

Lp.	Długość korzenia [mm]			
	H ₂ O	IAA 0,002 mg dm ⁻³	IAA 0,2 mg dm ⁻³	IAA 20 mg dm ⁻³
1.				
2.				
...				
...				
9.				
10.				
Średnia				
% kontroli	100			

Doświadczenie III

Wpływ NAA na ukorzenianie pędów

III.A. WPŁYW NAA NA UKORZENIANIE PĘDÓW FASOLI

Zasada metody

Auksyny inicjują tworzenie zawiązków korzeni przybyszowych.

Materiał

dwutygodniowe rośliny fasoli uprawiane w doniczkach z podłożem ogrodniczym

Odczynniki

roztwór NAA o stężeniu 20 mg dm^{-3}

Sprzęt laboratoryjny

nożyczki, 2 wąskie zlewki 250 cm^3 owinięte folią aluminiową

Wykonanie doświadczenia

Rośliny ściąć na wysokości około 1 cm powyżej szyjki korzeniowej.

Po 10 roślin umieścić na 4–6 godzin w zlewkach zawierających:

- a) H_2O destylowaną (kontrola),
- b) roztwór NAA o stężeniu 20 mg dm^{-3} .

Następnie wyjąć rośliny, ich pędy opłukać pod bieżącą wodą i ponownie wstawić do zlewek zawierających wodę wodociągową. Wodę w naczyniach wymieniać codziennie.

Opracowanie wyników

Po 7–10 dniach porównać rośliny z grupy kontrolnej i traktowanej NAA, zwracając uwagę na liczbę i długość korzeni oraz ich rozmieszczenie na pędzie.

III.B. WPŁYW IBA NA UKORZENIANIE PĘDÓW RÓŻY W HODOWLI *IN VITRO*

Zasada metody

Jak w punkcie III.A.

Materiał

sześcioletniowe pędy róży namnożone w hodowli *in vitro* (1 słoik)

Odczynniki

- a) podłoże kontrolne – sterylna pożywka agarowa MS (por. załącznik 2) bez dodatku IBA (4 słoiki, po 30 cm^3 pożywki)
- b) podłoże ukorzeniające – sterylna pożywka agarowa MS z dodatkiem IBA (por. załącznik 2) w stężeniu $0,5 \text{ mg dm}^{-3}$ (4 słoiki po 30 cm^3 pożywki)

Sprzęt laboratoryjny

komora z laminarnym przepływem powietrza, sterylne narzędzia do pracy w komorze: 2 podpórki metalowe, pęseta długa, pęseta stomatologiczna (krótka, zagięta), skalpel, podkładki papierowe w kopercie

Wykonanie doświadczenia

Wszystkie czynności wykonywać w warunkach sterylnych w komorze z laminarnym przepływem powietrza.

1. Posługując się długą pęsetą kępkę pędów róży namnożonych w warunkach *in vitro* wyciągnąć ze słoika i przenieść na papierowe podkładki. Następnie posługując się pęsetą stomatologiczną i skalpelem, kępkę rozciąć na pojedyncze pędy, z pędów obciąć dolne liście i ewentualne podeschnięte, pędy przenosić na oddzielną papierową podkładkę.
2. Uzyskane pędy przenieść długą pęsetą do słoików zawierających podłoże kontrolne oraz do słoików zawierających podłoże ukorzeniające. Pędy umieścić pionowo w podłożu – po 4 pędy w 1 słoiku.
3. Hodowle umieścić w fitotronie w temperaturze 24°C, przy fotoperiodzie 16 godzin/8 godzin (światło/ciemność) oraz oświetleniu 120 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Opracowanie wyników

Po 7–10 dniach porównać pędy z hodowli kontrolnej i z dodatkiem IBA, zwracając uwagę na liczbę i długość korzeni.

Doświadczenie IV

Dominacja wierzchołkowa

Zasada metody

Auksyny, których najwyższe stężenie występuje w części wierzchołkowej pędu głównego rośliny, hamują rozwój pąków bocznych. Zjawisko to nazywane jest dominacją wierzchołkową.

Materiał

trzytygodniowe rośliny fasoli uprawiane w doniczkach z podłożem ogrodniczym

Odczynniki

pastą lanolinową zawierającą IAA (opis przygotowania por. Doświadczenie I)

Sprzęt laboratoryjny

nożyczki, cienka bagietka

Wykonanie doświadczenia

Rośliny podzielić na 3 grupy:

- a) rośliny kontrolne,
- b) rośliny, u których ścina się pęd około 1,5 cm powyżej pierwszej pary liści,
- c) rośliny, u których ścina się pęd około 1,5 cm powyżej pierwszej pary liści, a powierzchnię ścięcia smaruje się pastą lanolinową zawierającą IAA. Po 3 dniach powtórnie nanieść pastę.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach w poszczególnych wariantach ocenić rozwój pędów bocznych znajdujących się w kątach pierwszej pary liści.

Doświadczenie V

Wpływ GA_3 na wzrost siewek grochu karłowatego

Zasada metody

Gibereliny odpowiadają za wydłużanie się pędu poprzez stymulowanie aktywności mitotycznej komórek zlokalizowanych pod merystemem wierzchołkowym. Występowanie krótkiego pędu u karłowatych odmian roślin wiąże się z zablokowaniem syntezy giberelin albo wytwarzaniem inhibitorów giberelin i może być wynikiem mutacji pojedynczego genu.

Materiał

siedmiodniowe siewki grochu odmiany karłowatej (np. Cud Kelvedonu) uprawiane w doniczkach z podłożem ogrodniczym

Odczynniki

roztwór GA_3 o stężeniu 1 mg cm^{-3}

Sprzęt laboratoryjny

pipety (0,01–0,1 cm³)

Wykonanie doświadczenia

Znajdujące się w doniczce siewki podzielić na 2 grupy:

- a) rośliny kontrolne,
- b) rośliny traktowane GA₃ – używając pipety, na wierzchołki pędów nanieść po 0,01 cm³ roztworu GA₃.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach zmierzyć długość pędów roślin z obu grup, zapisać wyniki i obliczyć wartości średnie. Zwrócić uwagę na długość i liczbę międzywęźli.

Doświadczenie VI**Wpływ GA₃ i CCC na wzrost hypokotyla sałaty****Zasada metody**

Retardanty, będące syntetycznymi inhibitorami wzrostu, hamują wydłużanie się pędów bez wywoływania innych deformacji. Działają antagonistycznie w stosunku do giberelin.

Materiał

nasiona sałaty

Odczynniki

roztwór GA₃ o stężeniu 7 mg dm⁻³, roztwór CCC o stężeniu 3,2 g dm⁻³, roztwór penicyliny o stężeniu 5 mg cm⁻³

Sprzęt laboratoryjny

4 szalki Petriego o średnicy 9 cm, pipety (0,1–10 cm³)

Wykonanie doświadczenia

Do 4 szalek Petriego włożyć po 2 krążki bibuły filtracyjnej i wlać odpowiednie roztwory:

- a) H₂O destylowana (8 cm³) – kontrola,
- b) GA₃ 7 mg dm⁻³ (4 cm³) + H₂O destylowana (4 cm³) [końcowe stężenie GA₃ – 3,5 mg dm⁻³],

c) CCC $3,2 \text{ g dm}^{-3}$ (4 cm^3) + H_2O destylowana (4 cm^3) [końcowe stężenie CCC – $1,6 \text{ g dm}^{-3}$],

d) GA_3 7 mg dm^{-3} (4 cm^3) + CCC $3,2 \text{ g/dm}^3$ (4 cm^3) [końcowe stężenie GA_3 – $3,5 \text{ mg dm}^{-3}$ + CCC – $1,6 \text{ g dm}^{-3}$].

W każdej szalce ułożyć po 20–30 nasion sałaty i dodać po $0,1 \text{ cm}^3$ roztworu penicyliny. Szalki umieścić na świetle, w temperaturze 24°C .

Opracowanie wyników

Po 7 dniach hodowli ocenić wygląd siewek, zmierzyć długość hypokotyli 10 siewek z każdej szalki i obliczyć średnią dla każdego wariantu. Wyniki wpisać do tabeli 9.2. Obliczyć % kontroli, przyjmując długość hypokotyli siewek hodowanych na szalce z H_2O za 100%.

Tabela 9.2. Wpływ GA_3 i CCC na wzrost hypokotyli sałaty

Lp.	Długość hypokotyli [mm]			
	H_2O	GA_3	CCC	$\text{GA}_3 + \text{CCC}$
1.				
2.				
...				
...				
9.				
10.				
Średnia				
% kontroli	100			

Doświadczenie VII

Wpływ kinetyny na masę liścieni rzodkiewki

Zasada metody

Cytokininy zwiększają masę roślin poprzez aktywację podziałów komórkowych oraz zwiększanie rozmiarów komórek.

Materiał

dwudniowe siewki rzodkiewki skiełkowane na szalce z bibułą

Odczynniki

roztwory kinetyny (KIN) o stężeniach: 0,1; 1 i 10 mg dm^{-3} , roztwór penicyliny o stężeniu 5 mg cm^{-3}

Sprzęt laboratoryjny

4 szalki Petriego o średnicy 9 cm, pipety (0,1–10 cm³), skalpel, pęseta, waga laboratoryjna

Wykonanie doświadczenia

Do 4 szalek Petriego włożyć po 2 krążki bibuły filtracyjnej i wlać po 10 cm³ odpowiednich roztworów:

- a) H₂O destylowana (kontrola),
- b) KIN 0,1 mg dm⁻³,
- c) KIN 1 mg dm⁻³,
- d) KIN 10 mg dm⁻³.

Do każdej szalki dodać po 0,1 cm³ roztworu penicyliny. Używając skalpela, odciąć liścienie od hypokotyli. Do doświadczenia wybrać 40 liścieni o podobnej wielkości. W każdej szalce umieścić po 10 uprzednio odważonych liścieni. Zanotować łączną masę 10 liścieni dla każdego wariantu doświadczenia. Szalki umieścić na świetle, w temperaturze 24°C.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach hodowli wyjąć liścienie z szalek, osuszyć na bibule i ponownie zważyć. Wyniki wpisać do tabeli 9.3. Dla każdego wariantu obliczyć przyrost masy liścieni jako % wartości początkowej, dzieląc przyrost masy liścieni [mg] po 7 dniach przez początkową masę liścieni [mg].

Tabela 9.3. Wpływ kinetyny (KIN) na masę liścieni rzodkiewki

Stężenie KIN [mg cm ⁻³]	Masa 10 liścieni [mg]		Przyrost masy liścieni	
	Początkowa	Końcowa	[mg]	% wartości początkowej
0				
0,1				
1				
10				

Doświadczenie VIII

Wpływ kinetyny i etylenu na rozpad chlorofilu

Zasada metody

Cytokininy opóźniają procesy starzenia się roślin, m.in. powstrzymują rozkład chlorofilu. W aspekcie wpływu na starzenie się organów roślinnych etylen działa antagonistycznie w stosunku do cytokinin.

Materiał

dwutygodniowe rośliny jęczmienia uprawiane w doniczkach z podłożem ogrodniczym

Odczynniki

roztwór kinetyny (KIN) o stężeniu $2,2 \text{ mg dm}^{-3}$, Ethrel rozcieńczony 1:1000; Ethrel jest preparatem handlowym zawierającym kwas 2-chloroetylofosfonowy, który rozpada się z wydzieleniem etylenu

Sprzęt laboratoryjny

3 szalki Petriego o średnicy 9 cm, pipety ($0,1\text{--}10 \text{ cm}^3$), nożyczki

Wykonanie doświadczenia

Do 3 szalek Petriego wlać po 8 cm^3 odpowiednich roztworów:

- a) H_2O destylowana (kontrola),
- b) KIN $2,2 \text{ mg dm}^{-3}$,
- c) Ethrel.

Do każdej szalki dodać po $0,1 \text{ cm}^3$ roztworu penicyliny. W każdej szalce umieścić po 10 fragmentów liści jęczmienia o długości około 1 cm. Ułożyć je dolną fizjologicznie stroną na powierzchni roztworów. Fragmenty liści należy wycinać tak, aby wszystkie były pobrane w tej samej odległości od wierzchołka liścia. Szalki umieścić na świetle, w temperaturze 24°C .

Opracowanie wyników

Po 7 dniach ocenić wygląd fragmentów liści jęczmienia w poszczególnych wariantach doświadczenia, zwracając uwagę na zawartość chlorofilu.

Doświadczenie IX

Wpływ herbicydu Pielik na wzrost pszenicy i gorczycy

Zasada metody

Pielik jest systemicznym, selektywnym herbicydem stosowanym do zwalczania chwastów dwuliściennych w uprawach roślin jednoliściennych. Substancją czynną tego preparatu jest 2,4-D, będący syntetyczną auksyną. Jego negatywny wpływ na rośliny jest związany z zaburzeniem równowagi hormonalnej, wywołanym m.in. nadprodukcją etylenu i kwasu abscysynowego.

Materiał

dwutygodniowe rośliny pszenicy i gorczycy uprawiane w doniczkach z podłożem ogrodniczym

Odczynniki

preparat Pielik zawierający 2,4-D o stężeniu 1 g dm^{-3}

Sprzęt laboratoryjny

rozpylacz

Wykonanie doświadczenia

Rośliny podzielić na 2 grupy (osobne doniczki):

- a) rośliny kontrolne,
- b) rośliny traktowane Pielikiem (roztwór Pielika rozpylić na rośliny, używając rozpylacza).

Opracowanie wyników

Po 7 dniach ocenić wpływ zastosowanego herbicydu na rośliny pszenicy i gorczycy. Wyjaśnić odmienne działanie tego preparatu na rośliny jedno- i dwuliścienne, zwracając uwagę na różnice w budowie obu grup roślin.

Doświadczenie X

Wpływ 2,4-D na wzrost siewek ogórka

Zasada metody

Syntetyczne auksyny, takie jak 2,4-D, w wysokich stężeniach wpływają hamująco na wzrost wydłużeniowy roślin. Pędy i korzenie roślin charakteryzują się różną wrażliwością na działanie tych fitohormonów.

Materiał

nasiona ogórka

Odczynniki

roztwór 2,4-D o stężeniach: 0,1 i 1 mg dm⁻³, roztwór penicyliny o stężeniu 5 mg dm⁻³

Sprzęt laboratoryjny

3 szalki Petriego o średnicy 9 cm, pipety (0,1–10 cm³), cieplarka

Wykonanie doświadczenia

Do 3 szalek Petriego włożyć po 2 krążki bibuły filtracyjnej i wlać po 10 cm³ odpowiednich roztworów:

- a) H₂O destylowana,
- b) 2,4-D 0,1 mg dm⁻³,
- c) 2,4-D 1 mg dm⁻³.

W każdej szalce ułożyć po 15 nasion ogórka i dodać po 0,1 cm³ roztworu penicyliny. Szalki umieścić w cieplarni o temperaturze 25°C.

Opracowanie wyników

Po 7 dniach hodowli zmierzyć długość korzeni i hypokotyli 10 siewek z każdej szalki i obliczyć średnią dla każdego wariantu. Wyniki wpisać do tabeli 9.4. Obliczyć % kontroli, przyjmując długość korzenia/hypokotyli siewek hodowanych na szalce z H₂O za 100%.

Tabela 9.4. Wpływ 2,4-D na wzrost siewek ogórka

Lp.	H ₂ O		2,4-D 0,1 mg dm ⁻³		2,4-D 1 mg dm ⁻³	
	Długość korzenia [mm]	Długość hypokotyła [mm]	Długość korzenia [mm]	Długość hypokotyła [mm]	Długość korzenia [mm]	Długość hypokotyła [mm]
1.						
2.						
...						
9.						
10.						
Średnia						
% kontroli	100	100				

Literatura

Kopcewicz J., Lewak S. (red.), *Fizjologia roślin*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2019.

Kozłowska M. (red.), *Fizjologia roślin. Od teorii do nauk stosowanych*, PWRiL, Warszawa 2007.

Lewak S., Kopcewicz J., Jaworski K., *Fizjologia roślin. Wprowadzenie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2019.

Szweykowska A., *Fizjologia roślin*, Wydawnictwo UAM, Poznań 2002.