

Mikrorozmnażanie roślin



Dariusz Michalczyk
Teresa Jagielska



Zajęcia warsztatowe



11-16 lat

Typ zajęć

Zajęcia warsztatowe dla małej grupy do 10 osób. Zajęcia mogą być trudne do przeprowadzenia w warunkach szkolnych, ze względu na niezbędny sprzęt laboratoryjny.

Cele zajęć

Zapoznanie się z techniką rozmnażania roślin w warunkach laboratoryjnych, istota rozmnażania wegetatywnego, wymaganiami pokarmowymi komórek roślinnych. Zakładane efekty:

- Uczeń wie jakie są sposoby rozmnażania roślin i na czym polega mikrorozmnażanie roślin, metoda kultur in vitro, co to jest pożywka, eksplantat, pasaż, komora laminarna, autoklaw, zna zasady pracy w laboratorium
- Uczeń potrafi przygotować stanowisko pracy pod komorą laminarną i pracować w warunkach sterylnych
- Uczeń ćwiczy zdolności manualne poprzez wykonywanie czynności przy pomocy wysterylizowanych narzędzi, obserwacje i rozróżnianie tkanek roślinnych w hodowlach „in vitro”

Do przeprowadzenia zajęć będą potrzebne

- Hodowle akseniczne roślin (czyste kultury, wolne od drobnoustrojów)
- Pożywki w płytkach Petriego zestalone agarem (pełne lub nie zawierające fitohormonów)
- Sterylne płytki z bibułą
- Woda autoklawowana
- Rękawiczki
- Ręczniki papierowe
- 50% 2-propanol
- Alkohol etylowy skażony
- Pęsety
- Skalpele
- Niektóre odczynniki do zakupienia

Wprowadzenie

Większość roślin, które dostrzegamy wokół nas, zarówno wielkie dęby czy topole, jak i mniej okazałe gatunki uprawne jak pszenica zwyczajna czy groch ogrodowy, a także np. drobne stokrotki, to rośliny nasienne, zwane też kwiatowymi. Zgodnie z nazwą, wytwarzają one organy, takie jak kwiaty oraz rozwijające się wewnątrz przekwitających kwiatów nasiona.

Rozmnażanie roślin przy pomocy tych organów nazywane jest generatywnym i przypomina rozmnażanie płciowe pospolite u innych organizmów, m.in. zwierząt. Jego wynikiem jest wytworzenie przez organizmy rodzicielskie potomstwa, które pod wieloma względami przypomina rodziców, ale też różni się od nich, tak jak to można dostrzec wśród liczego rodzeństwa w ludzkich rodzinach: wszystkie dzieci przypominają rodziców, a jednak każde dziecko jest inne, niepowtarzalne. Niektóre rośliny potrafią rozmnażać się także w inny sposób, nazywany wegetatywnym, wykorzystując do tego organy takie jak rozmnóżki, rozłogi, kłącza.

Rośliny powstające w procesie rozmnażania wegetatywnego nie różnią się między sobą, ale są do siebie podobne niczym bliźnięta jednojajowe. Taki sposób rozmnażania roślin, zwłaszcza gdy jest wspomagane przez człowieka, nazywamy rozmnażaniem klonalnym albo klonowaniem. Nie wszystkie rośliny wykazują zdolność do rozmnażania wegetatywnego w ich naturalnym środowisku lub warunkach prostej uprawy ogrodniczej.

W laboratorium można ten efekt uzyskać u wszystkich gatunków. W tym celu musimy niewielkie fragmenty roślin umieszczać na pożywce, dostarczającej wszystkich niezbędnych im składników pokarmowych (surowców, tworzywa, umożliwiającego wzrost), a także niewielkich ilości substancji służących jako chemiczne sygnały kierujące rozwojem tkanek roślinnych, w naszym doświadczeniu „skłaniających” komórki liści do wytwarzania nowych roślin. Takie sygnałowe cząsteczki nazywamy hormonami, dokładniej hormonami roślinnymi, czyli fitohormonami.

Pożywka odpowiednia dla komórek roślinnych jest też łakomym kąskiem dla bakterii i grzybów, a ponieważ drobnoustroje potrafią rozmnażać się dużo szybciej od roślin, „zagłuszając” ich wzrost, musimy zadbać by żadnych mikroorganizmów nie było w naszych hodowlach. W tym celu prowadzić będziemy tzw. czyste, laboratoryjne hodowle roślin, zwane też kulturami *in vitro*. Rozmnażanie wegetatywne roślin przy pomocy kultur *in vitro* nazywamy mikrorozmnażaniem.

Opis przebiegu zajęć

- – Zapoznanie z pracownią „in vitro” i zasadami pracy w laboratorium
- – Wprowadzenie do tematu - omówienie warunków uprawy in vitro
- – Cześć praktyczna: założenie hodowli fiołka afrykańskiego (sępolii fiołkowej) z fragmentów liści pobranych z aksenicznej (mikrobiologicznie czystej) hodowli
- **1.** Przygotowanie komory laminarnej, która włączono 20 minut przed zajęciami, umycie rąk, wyłączenie światła UV, włączenie światła białego, przetarcie blatu i rak 50% 2-propanolem przy pomocy ręcznika papierowego, umieszczenie niezbędnych materiałów w komorze w sposób niezakłócający przepływu powietrza, odkażenie narzędzi przez zanurzenie w stężonym etanolu, wyprażenie w sterylizatorze kulkowym i ostudzenie w strumieniu jałowego powietrza.
- **2.** Praca w komorze laminarnej; przeniesienie (przy użyciu jałowej pesety i skalpela) fragmentu hodowli aksenicznej na sterylną płytkę szklaną z wilgotną bibułą, przycięcie liści i umieszczenie ich na płytkach z pożywką, opisanie hodowli i zapakowanie do foliowych woreczków chroniących przed wysychaniem i dostępem drobnoustrojów.
- **3.** Obserwacje różnych typów hodowli in vitro.



Polecana literatura do tematu

Do samodzielnego zgłębiania przez uczniów lub nauczycieli, jako opiekunów klasy:

- <http://www.wbp.olsztyn.pl/~krist/skrypt/start.php>
- <https://forumogrodnicze.info/viewtopic.php?f=7&t=48237>

Co dalej? (zadania po zajęciach)

Uczestnicy warsztatów zabierają ze sobą płytki Petriego z założonymi hodowlami w celu prowadzenia ciągłych obserwacji w domu lub szkole (płytki należy umieścić w widnym miejscu, ciepłym, nie narażonym na duże wahania temperatury i intensywny ruch powietrza).

Po około 2 miesiącach uczniowie oceniają wyniki hodowli – czy udało nam się uniknąć rozwoju pleśni lub bakterii (pierwsze zakażenia mogą pojawić się już po kilku dniach. Czy na rozwój pierwszych roślinek musimy poczekać ponad miesiąc)? Czy eksplantaty są żywe (zielone, nie zbrunatniałe)? Czy na powierzchni eksplantatów tworzą się nowe roślinki? Czy częstość regeneracji roślin na pożywce z fitohormonami i bez fitohormonów jest taka sama?

Konsultacje – dr Dariusz Michalczyk, darim@uwm.edu.pl.

Regeneracja fiołka afrykańskiego z eksplantatów liściowych.

- A.** Ogólny widok płytki z regenerującymi roślinki eksplantatami
- B.** Zbliżenie skupiska roślinek
- C.** Komórki liścia przed założeniem hodowli (widoczny włoszek liściowy, aparaty szparkowe i zwykłe komórki skórki)
- D.** Początek regeneracji roślin (widoczne roślinki wielkości poniżej 0,3 mm, włoski liściowe i zwykłe komórki skórki)

Skład pożywek

Celem doświadczenia jest porównanie regeneracji roślin na dwóch pożywkach: MS (od nazwisk twórców – Murashigiego [muraszigego] i Skooga [skuga]) oraz F (bo zawiera fitohormony), czyli takiej jak poprzednia, ale dodatkowo wzbogaconej w dwa fitohormony w niewielkich ilościach (0,5 i 2,5 mg/litr).