

Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Inleiding

Planten worden door hormonen beïnvloed in hun groei. In dit experiment wordt gekeken naar het effect van verschillende plantenhormonen door extra hoeveelheden van deze hormonen toe te dienen. Via een aantal verschillende vraagstellingen en proeven wordt er dan ook gekeken naar de interactie tussen de verschillende hormonen.

Het praktische gedeelte van het experiment bestaat uit het toedienen van plantenhormonen en het meten van het effect van die hormonen op de groei. Vervolgens worden de verkregen gegevens zelf verwerkt. Aan de hand van een eenvoudige statistische toets (Wilcoxon) kunnen dan vervolgens conclusies worden getrokken over het effect van de hormonen.

Doel

Doel van de hier behandelde proef is het bepalen van het effect van het plantenhormoon gibberelline op de lengtegroei met gebruikmaking van een eenvoudige statistische toets. Het uitvoeren van de toets dient om te weten te komen of een gevonden verschil een systematisch verschil is (d.w.z. statistisch significant is).

Theorie

Hormonen zijn stoffen die een biologisch proces stimuleren of juist remmen door hun specifieke werking. Meestal sturen zij bij dieren slechts één of enkele processen aan terwijl bij planten vaak verschillende processen door hetzelfde hormoon worden beïnvloed. Hormonen bij mensen en dieren zijn algemeen bekend. Minder bekend is dat planten ook gebruik maken van hormonen. Zo is er een plantenhormoon dat de lengtegroei reguleert en celstrekking stimuleert, terwijl weer andere hormonen betrokken zijn bij de veroudering.

Celdeling en celstrekking bepalen hoe een plant groeit. Hormonen die de celdeling in stengels reguleren komen uit de klasse van de gibberellinen (zie Figuur 1 voor de structuurformule). In dit experiment wordt gekeken of de beïnvloeding van de stengelgroei door gibberellinen kan worden aangetoond. Natuurlijk kunnen verschillende plantensoorten voor zo'n experiment worden gebruikt, maar hier kijken we naar het effect van gibberelline op de lengtegroei van een bonenplant. Aan het einde van dit experiment weten we het antwoord op de volgende vragen:

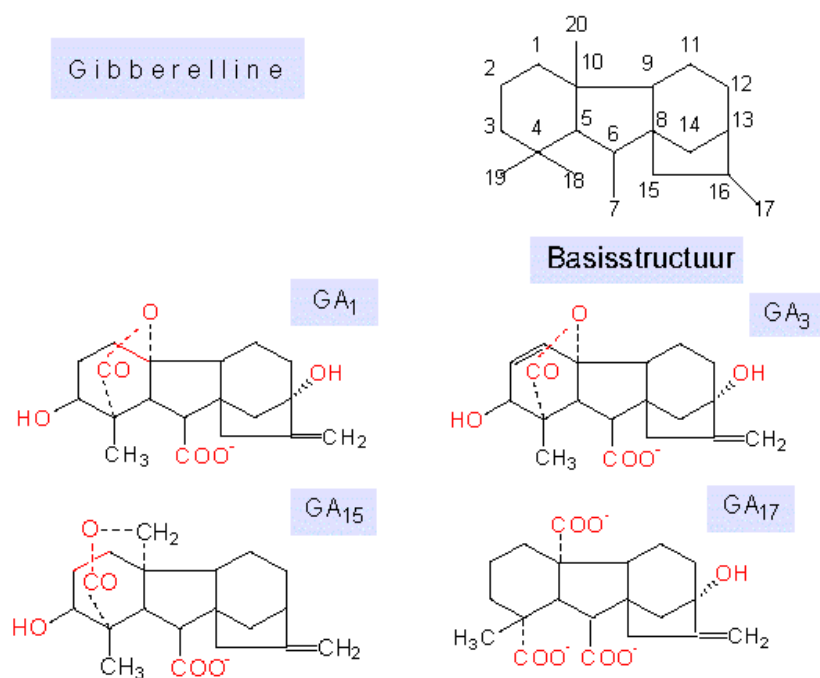
- Speelt het plantenhormoon gibberelline een rol bij de celstrekking van bonenplanten? Hiertoe remmen we de endogene (in het organisme zelf) productie van gibberelline met behulp van de remstof CCC ((CH₃)N(Cl)CH₂CH₂Cl).



Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

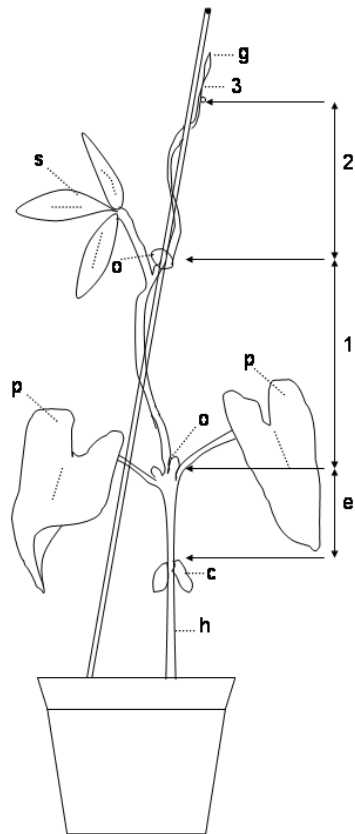
- Is de hoeveelheid endogeen gibberelline in de plant beperkend voor de lengtegroei van de stengel? Dit gaan we na door het spuiten van extra gibberelline (GA_3) op de plant onder de aanname dat exogene gibberelline een vergelijkbare werking heeft als endogene gibberelline.
- Reageren alle plantendelen op dezelfde manier op gibberelline en op CCC? Bij het vergelijken is het belangrijk te weten welk deel van de plant je moet meten. Hiertoe zijn drie stukken geselecteerd, namelijk het epicotyl, het eerste en het tweede internodium (Figuur 2). Dit zijn delen van de stengel tussen twee bladgroepen.



Figuur 1. De structuurformule van gibberelline. Rechts bovenaan staat de basisstructuur gegeven; eronder staan vier varianten. Van deze vier is GA_1 waarschijnlijk het actieve gibberelline in de meeste plantensoorten.

Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-



- c = cotyl
- e = epicotyl
- g = groeitop
- h = hypocotyl
- o = okselknop
- p = primair blad
- s = secundair blad
- 1 = eerste internodium
- 2 = tweede internodium

N.B. een internodium is een stengeldeel gelegen tussen twee bladinplantingen

Figuur 2. Schematische weergave van een bruine bonenplant. De verschillende onderdelen die belangrijk zijn voor de meting zijn aangegeven.

Het is belangrijk om je van tevoren te realiseren - voordat je een proefopzet kiest - hoe je de resultaten van het onderzoek wilt verwerken. Statistische toetsen zijn namelijk voor bepaalde situaties ontworpen. Ook moet je je realiseren dat de hier gebruikte toets niet de beste hoeft te zijn. Aangezien we er in dit experiment voor hebben gekozen de toets eenvoudig te houden, kan het zo zijn dat een meer geavanceerde toets beter zou voldoen. In dit experiment maken we gebruik van de Wilcoxon toets voor twee steekproeven. Met deze toets kan een verschil worden aangetoond tussen twee steekproeven waarbinnen de objecten een verschillende behandeling hebben gehad. Vóór de uitvoering van dit experiment is het raadzaam eerst de lesbrief 'Wilcoxon twee steekproeven toets: het toetsen van verschillen' te bestuderen. Daarin staan ook de tabellen die nodig zijn voor het bepalen van het kritieke gebied.

Celdeling

Cellen kunnen delen en zich zo vermeerderen. Dit proces heet mitose. Bij groeiende weefsels is er dus een grote mitose activiteit. In het meristeem van de plant is een hoge delingsactiviteit mogelijk.

Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Hormonen

Plantenhormonen zijn kleine moleculen die als een boodschapper fungeren. Er zijn plaatsen in het organisme waar ze worden aangemaakt en weer andere plaatsen waar hormonen een reactie (kunnen) veroorzaken. Hormonen veroorzaken een reactie door zich te binden aan receptoren. Deze receptoren liggen binnen in de cel (in het cytoplasma) of op het plasmamembraan.

In dit experiment werken we met een hormoon uit de klasse van de gibberellinen, dat o.a. door middel van stimulering van de celdeling lengtegroei in de stengel stimuleert. Deze delingsactiviteit vindt vooral plaats in het zogenaamde subapicale meristeem. Dat is het net onder de top gelegen delingsweefsel in de stengel. Als er gibberellinen worden geproduceerd, verhoogt dat de celdelingactiviteit van het subapicale meristeem en daardoor vertoont de plant meer lengtegroei. Er zijn echter ook stoffen die de werking van hormonen onderdrukken. Zulke stoffen worden antagonisten genoemd. CCC is een antagonist van gibberelline, die de synthese (aanmaak) van gibberelline remt.

Wilcoxon twee steekproeven toets

De Wilcoxon twee steekproeven toets is een toets waarmee verschillen aangetoond kunnen worden. Er is dan sprake van twee steekproeven waarbinnen objecten dezelfde behandeling krijgen. Uiteraard verschilt de behandeling wel tussen de beide steekproeven. De waarnemingen worden gerangschikt op volgorde van grootte van een gemeten eigenschap. Door alle waarnemingen (totaal van de twee steekproeven) van die eigenschap te ordenen, kan aan elke waarneming een rangorde worden toegekend. Daarmee kan vervolgens de toetsingsgrootte worden bepaald. Een uitgebreide uitleg evenals de tabel met kritieke waarden voor deze toets zijn gegeven in de lesbrief 'Wilcoxon twee steekproeven toets: het toetsen van verschillen'.

Uitvoering

Materialen

- Gibberelline
- CCC ((CH₃)N(Cl)CH₂CH₂Cl)
- 8 Bonenplanten (van dezelfde leeftijd)
- Water
- 3 Plantenspuiten (voor elke behandeling een aparte plantenspuit gebruiken!)

Veiligheid

Het bespuiten van de planten met CCC *moet* in de zuurkast worden gedaan waarbij handschoenen moeten worden gedragen. CCC kan namelijk schadelijk zijn als je het inademt, drinkt of er op een andere manier mee in contact komt.



Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Dit experiment dient altijd uitgevoerd te worden onder begeleiding van een docent of toa. Wageningen University aanvaardt geen enkele aansprakelijkheid voor schade die voortvloeit uit het verrichten van dit experiment buiten de campus van Wageningen University.

Beschrijving

Nummer de acht bonenplanten en maak acht lootjes met de nummers 1 tot en met 8. Doe deze lootjes in een hoed en trek de lootjes er één voor één uit. Noteer de nummers die je trekt in volgorde bijvoorbeeld 1, 8, 5, 4, 3, 6, 7, 2. De hieronder onderscheiden groepen bestaan dan uit de volgende plantnummers: Groep 1 plant 1 en 8, Groep 2 plant 5 en 4, Groep 3 plant 3 en 6 en Groep 4 plant 7 en 2.

Per groep worden de volgende behandelingen uitgevoerd:

- Groep 1: Controle: bespuit twee bonenplanten met water
- Groep 2: Gibberelline behandeling: bespuit twee planten met 10^{-3} M gibberelline
- Groep 3: Remmen van gibberelline: bespuit twee planten met 10^{-2} M CCC (zie paragraaf Veiligheid)
- Groep 4: Testen van nevenactiviteiten van CCC: bespuit twee planten met 10^{-2} M CCC en 10^{-3} M gibberelline (zie paragraaf Veiligheid)

Voer deze behandelingen uit. Plaats bij elke behandelde plant een etiket met je naam en de behandeling. Voer de bespuitingen bij voorkeur uit in een zuurkast om bespuiting van andere planten te vermijden. Spuit zoveel dat het water net van de bladeren druppelt. Plaats de planten vervolgens op de vensterbank. Zorg er wel voor dat de planten allemaal even ver van de ramen afstaan en daardoor evenveel licht krijgen (bedenk ook waarom!). Na het meten (zie de volgende paragraaf) kan een Wilcoxon twee steekproeven toets worden uitgevoerd om iets te kunnen zeggen over of er wel of geen groei heeft plaatsgevonden. Aangezien de Wilcoxon twee steekproeven toets uitgaat van het vergelijken tussen twee behandelingen (steekproeven) kunnen niet alle vier de behandelingen tegelijk worden vergeleken. Van de vier steekproeven moeten dus de relevante paren met elkaar worden vergeleken.

Metingen

Meet na een week de lengte van het epicotyl, het eerste en het tweede internodium (zie Figuur 2) van alle planten. Vul de lengten vervolgens in de bijgevoegde tabel 1 in. De rest van tabel 1 kan worden aangevuld met de resultaten van andere groepjes. Dit doe je om een grotere steekproef te creëren zodat de toets verantwoord uit te voeren is (er is namelijk een minimaal aantal waarnemingen per groep nodig om de toets überhaupt en met enige mate van betrouwbaarheid te kunnen uitvoeren). Zorg er om bovenstaande reden voor dat er in ieder geval 10 waarnemingen per behandeling zijn, als je de groepen gaat vergelijken met de Wilcoxon twee steekproeven toets.



Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Resultaten

De verkregen resultaten kunnen worden ingevuld in tabel 1.

Tabel 1. Metingen van de verschillende delen bonenplant. Contr is de controle, GA de behandeling met gibberelline, CCC de behandeling met CCC en GA + CCC de behandeling met gibberelline en CCC.

	Lengtes (mm)											
	Epicotyl				1e internodium				2e internodium			
	Contr	GA	CCC	GA+ CCC	Contr	GA	CCC	GA+ CCC	Contr	GA	CCC	GA+ CCC
Meting 1												
Meting 2												
Meting 3												
Meting 4												
Meting 5												
Meting 6												
Meting 7												
Meting 8												
Meting 9												
Meting 10												
Meting 11												
Meting 12												
Meting 13												
Meting 14												

Vragen

Beantwoord onderstaande vragen voor óf het epicotyl, óf het 1^e internodium óf het 2^e internodium. Als er tijd over is kan je de vragen nogmaals doen met één van de twee andere delen van de bonenplant. Voer de toetsen uit bij een onbetrouwbaarheidsdrempel van vijf procent ($\alpha=0,05$).

1. Bepaal of er verschil is tussen de controle behandeling en de behandeling met gibberelline. Gebruik daartoe tabel 2. Voer vervolgens de Wilcoxon twee steekproeventoets uit volgens het stappenplan zoals in de bijbehorende lesbrief is gegeven.



Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Tabel 2. Rangnummer bepaling van gibberelline t.o.v. controle.

Meting	Gibberelline	Rangnrs	Controle	Rangnrs
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
	Totaal		Totaal	

2. Bepaal of er verschil is tussen de controle en de behandeling met CCC. Gebruik daartoe tabel 3. Voer de Wilcoxon twee steekproevenoets uit volgens het stappenplan zoals in de bijbehorende lesbrief is gegeven.

Tabel 3. Rangnummer bepaling van CCC t.o.v. controle.

Meting	CCC	Rangnrs	Controle	Rangnrs
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
	Totaal		Totaal	

3. Bepaal of er verschil is tussen de behandeling met gibberelline en de behandeling met gibberelline en CCC. Gebruik daartoe tabel 4. Voer de Wilcoxon twee steekproevenoets uit volgens het stappenplan zoals in de bijbehorende lesbrief is gegeven.



Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Tabel 4. Rangnummer bepaling van gibberelline en CCC t.o.v. gibberelline.

Meting	Gibberelline en CCC	Rangnrs	Gibberelline	Rangnrs
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
	Totaal		Totaal	

4. Wat concludeer je over de werking van gibberelline? Gebruik hierbij de uitkomsten van de Wilcoxon twee steekproevenoets.
5. Wat is je conclusie over de werking van CCC? Gebruik hierbij de uitkomsten van de Wilcoxon twee steekproevenoets.
6. Als je naar de waarnemingen kijkt, komen de conclusies van bovenstaande opdrachten dan overeen met je verwachtingen? Als dat niet zo is: Wat zou de oorzaak van dit verschil kunnen zijn?



Plantenhormonen

-Effect op plantengroei-

Suggesties voor verder onderzoek

Overigens kan ook een ander onderwerp gekozen worden als je met behulp van de Wilcoxon twee steekproeven toets systematische verschillen aan wilt tonen. Zo zou in plaats van plantengroei onder invloed van een hormoon ook gekeken kunnen worden naar de invloed van licht op de plantengroei. Een voorbeeld hiervan is de “panty proef”. Bij deze proef maak je weer twee willekeurig gekozen groepen planten. Bij één groep span je met behulp van wat ijzerdraad een panty over de plant terwijl je dit bij de andere groep niet doet. De panty moet een soort tentje vormen en niet strak om de plant zitten. De bladeren mogen er geen hinder van ondervinden om zo deze systematische fout uit te schakelen. Na een week kijk je naar het gewicht van de plant in beide groepen. Deze uitkomsten kunnen vervolgens op volgorde worden gezet per behandeling en een rangnummer toebedeeld krijgen om vervolgens de Wilcoxon twee steekproeven toets te kunnen uitvoeren.

Documentatie

Lesbrief over de statistische toets Wilcoxon twee steekproeven toets. Deze is te downloaden bij deze handleiding: Wilcoxon.pdf.

Oriëntatie op vervolgonderwijs

Het onderwerp van dit experiment kom je ook tegen in de volgende opleidingen van Wageningen University:

- Biologie
- Plantenwetenschappen
- Bos- en Natuurbeheer

Kijk voor meer informatie op www.wageningenuniversity.nl/studiekiezer.

