

<https://doi.org/10.18778/8220-012-6.02>

ROZDZIAŁ II. **MINERALNE ODŻYWIANIE ROŚLIN**

CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Składniki mineralne gleby są podstawowymi związkami pokarmowymi dla roślin. Poszczególne gatunki roślin mają odmienne wymagania pokarmowe w stosunku do każdego z pobieranych pierwiastków. Jedną z metod określania niezbędności związków mineralnych dla roślin jest metoda kultur wodnych (hydroponika). **Kultury wodne** umożliwiają wprowadzenie do podłoża dokładnej, znanej ilości badanego pierwiastka w postaci łatwo dostępnej dla roślin. Pozwalają też na eliminowanie z podłoża soli poszczególnych pierwiastków i zastępowanie ich równoważnymi ilościami innych soli, co powoduje, że rośliny wykazują charakterystyczne **objawy niedoboru** określonych pierwiastków. Na podstawie objawów niedoboru danego pierwiastka można wnioskować o jego roli w metabolizmie roślin oraz procesach wzrostu i rozwoju. Doświadczenia polowe mogą stanowić tylko uzupełnienie tych badań, ponieważ przeprowadzane są w zmieniających się warunkach i nie dają podstawy do ilościowej oceny niezbędności poszczególnych składników mineralnych. Istnieje kilka kryteriów podziału składników mineralnych (pierwiastków niezbędnych dla roślin), jednak najczęściej dzieli się je na **makro** i **mikroelementy** na podstawie ilości, w jakiej występują w roślinach (inne kryteria przedstawiono w części teoretycznej rozdziału *Skład chemiczny roślin. Wykrywanie składników mineralnych w roślinach*).

Roślina z rodziny rzęsowatych, spirodela wielokorzeniowa, jest szczególnie dogodnym materiałem do badania niezbędności składników mineralnych. W warunkach optymalnych bardzo szybko się namnaża, a jednocześnie jest bardzo wrażliwa na brak poszczególnych składników mineralnych w podłożu.

CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

Cel ćwiczenia

Zapoznanie się z fizjologiczną rolą makro- i mikroelementów w roślinach, rozpoznawanie objawów niedoboru pierwiastków u roślin oraz ocena wpływu pH podłoża na przyswajanie składników mineralnych.

Doświadczenie I

Określenie niezbędności wybranych składników mineralnych dla wzrostu i rozwoju roślin metodą kultur wodnych

Zasada metody

Poprzez wykorzystanie kultur wodnych o ściśle kontrolowanym składzie pożywki można określić niezbędność składników mineralnych w odżywianiu roślin. Niedobór bądź brak określonego składnika mineralnego prowadzi do zmian morfologicznych i metabolicznych w zależności od funkcji, jaką pełni on w roślinach.

Materiał

sterylna kultura spirodeli wielokorzeniowej

Odczynniki

pożywka Hoaglanda (por. załącznik 1)

Sprzęt laboratoryjny

7 kolb Erlenmeyera 100 cm³, eza, palnik, pH-metr, waga laboratoryjna, pęseta, linijka

I.A. SZCZEPIENIE I HODOWLA ROŚLIN

W doświadczeniu zakłada się hodowlę roślin, wykorzystując pożywkę pełną oraz pożywki niezawierające jednego z następujących pierwiastków: N, P, K, Ca, Mg, Fe, przygotowane według załącznika 1.

Materiałem roślinnym jest wyjściowa, sterylna kultura spirodeli wielokorzeniowej na pożywce pełnej namnażającej (por. załącznik 1). Szczepienie roślin odbywa się w warunkach sterylnych,

w komorze z laminarnym przepływem powietrza. Po przygotowaniu powierzchni roboczej do pracy sterylnej rozpocząć szczepienie przez opalenie ezy w płomieniu palnika. Następnie otworzyć kolbę z roślinami z kultury wyjściowej, opalić jej wylot i za pomocą ezy przenieść do nowej kolby ze sterylną pożywką po 10–12 członów pędowych (frondów), dodać niewielką ilość sterylnego CaCO_3 *in substantia* (dla utrzymania stałego pH pożywki w trakcie hodowli roślin), wylot kolby ponownie opalić i zamknąć. Na kolbie napisać liczbę przeniesionych członów pędowych (F_0). Czynność powtarzać aż do zaszczepienia wszystkich kolb z pożywką pełną i pożywkami pozbawionymi określonego pierwiastka – łącznie 7 kolb (por. załącznik 1).

Kolby z roślinami wstawić do pokoju hodowlanego o fotoperiodzie 16 godzin/8 godzin (światło/ciemność), gdzie temperatura powietrza wynosi $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, a natężenie światła $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Hodowlę prowadzić przez 1–2 tygodnie.

I.B. OCENA MORFOLOGICZNA

Dokonać oceny cech morfologicznych roślin wyhodowanych na pożywce pełnej i pożywkach pozbawionych określonego pierwiastka. W każdej kolbie policzyć człony pędowe i obliczyć wartość współczynnika wzrostu (MR) zgodnie ze wzorem:

$$\text{MR} = \frac{\log F_d - \log F_0}{d} \times 1000$$

gdzie:

F_d – liczba frondów po d dniach,

F_0 – liczba frondów w czasie 0,

d – liczba dni hodowli.

Opracowanie wyników

Zmierzyć wielkość i określić barwę spłaszczonych okrągłych pędów przypominających liście (górną i dolną powierzchnią). Zmierzyć długość i określić barwę korzeni. Następnie wyjąć rośliny znajdujące się w kolbie Erlenmeyera, delikatnie osuszyć na bibule i zważyć. Wyniki wpisać do tabeli 2.1. Po zważeniu roślin oznaczyć w nich zawartość antocyjanów i chlorofilu (por. Doświadczenie II).

Pożywka	Liczba roślin w kolbie			Pędy przypominające liście			Korzenie	
	F ₀	F ₇ (po 7 dniach)	MR	Wielkość	Barwa	Masa [g]	Długość	Barwa
Pełna								
– N								
– P								
– K								
– Ca								
– Mg								
– Fe								

Doświadczenie II

Oznaczenie zawartości antocyjanów

Zasada metody

Antocyjany absorbują UV i światło widzialne w zakresie 300–550 nm. Podczas ćwiczeń mierzy się absorpcję światła przy długości fali 515 nm.

Materiał

rośliny spirodeli wielokorzeniowej hodowane na różnych wariantach pożywek

Odczynniki

1 M HCl

Sprzęt laboratoryjny

moździerz, pipety (1–5 cm³), probówka Eppendorf, probówka szklana, wirówka, spektrofotometr, kuweta spektrofotometryczna o drodze optycznej 1 cm, waga laboratoryjna, pęseta, pipeta pasteurowska (w przeliczeniu na jeden wariant pożywki)

Wykonanie doświadczenia

Na wadze odważyć 100 mg roślin i rozetrzeć w moździerzu. Do otrzymanej miazgi dodać 3 cm³ 1 M HCl. Zawartość moździerza przenieść do probówki i odwirować. Pipetą pasteurowską zebrać płyn z nad osadu do szklanej probówki. W płynie nadosadowym

Tabela 2.1. Wpływ braku składników mineralnych na wzrost i wygląd spirodeli wielokorzeniowej

oznaczyć absorbancję w kuwecie spektrofotometrycznej przy długości fali 515 nm.

Opracowanie wyników

Zawartość antocyjanów odpowiada wartości absorbancji próby. Wyniki umieścić w tabeli 1.2.

Doświadczenie III

Oznaczenie zawartości chlorofilu

Zasada metody

Chlorofil ekstrahuje się acetonem. W otrzymanym ekstrakcie mierzy się absorbancję przy długości fali 646 i 664 nm. Stosując specyficzne współczynniki absorpcji, oblicza się zawartość chlorofilu *a* i *b* w materiale roślinnym.

Materiał

rośliny spirodeli wielokorzeniowej hodowane na różnych wariantach pożywek

Odczynniki

80% aceton (CH_3COCH_3)

Sprzęt laboratoryjny

moździerz, 2 cylindry 25 cm³, lejek, sącdek bibułowy, pipety (1–5 cm³), kuweta spektrofotometryczna o drodze optycznej 1 cm, spektrofotometr, waga laboratoryjna (w przeliczeniu na 1 wariant pożywki)

Wykonanie doświadczenia

UWAGA: *Wszystkie czynności wykonać pod pracującym dygestorium.*

100 mg roślin homogenizować w moździerzu. Dodać porcjami 15 cm³ 80% CH_3COCH_3 . Sączyć do cylindra miarowego i objętość uzupełnić acetonem do 20 cm³. W przesączu oznaczyć absorbancję w kuwecie spektrofotometrycznej przy długości fali 646 i 664 nm.

Opracowanie wyników

Zawartość chlorofilu obliczyć, korzystając ze wzorów:

$$\text{chl } a = (12,7 \times A_{664} - 2,7 \times A_{646} \times 1,40)$$

$$\text{chl } b = (22,9 \times A_{646} - 4,7 \times A_{664} \times 1,40)$$

Wyniki podać w tabeli 2.2.

Tabela 2.2.

Wpływ składników mineralnych na zawartość antocyjanów i chlorofilu w spirodeli wielokorzeniowej

Pożywka	Antocyjany [absorbancja A_{515}]	Chlorofil [$\mu\text{g mg}^{-1}$ świeżej masy]	
		Chlorofil <i>a</i>	Chlorofil <i>b</i>
Pełna			
– N			
– P			
– K			
– Ca			
– Mg			
– Fe			

Literatura

- Bergmann W. (ed.), *Nutritional Disorders of Plants. Development, Visual and Analytical Diagnosis*, Gustav Fischer Verlag, Jena 1992.
- Gorlach E., Mazur T., *Chemia rolna*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001.
- Kopcewicz J., *Podstawy biologii roślin*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2012.
- Lewak S., Kopcewicz J., Jaworski K., *Fizjologia roślin. Wprowadzenie*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2019.
- Mercik S. (red.), *Chemia rolna. Podstawy teoretyczne i praktyczne*, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 2004.