Zadanie

Wzrost roślin w kulturach wodnych na pożywce pełnej oraz pozbawionej niektórych składników mineralnych

Wstęp

Fizjologiczną rolę składników mineralnych i objawy niedoboru tych składników można badać metodą kultur wodnych. Roślinom dostarcza się wtedy sole mineralne w formie roztworu wodnego, nazywanego pożywką. Pożywka pełna zawiera wszystkie makro i mikroelementy niezbędne roślinie do wzrostu. Pożywka niepełna pozbawiona jest jednego lub więcej składników mineralnych. Autorski skład pożywki związany jest z nazwiskiem twórcy np pożywka Hoaglanda czy Knopa. Prawidłowo zaprojektowana i przygotowana pożywka powinna spełniać szereg dodatkowych warunków (patrz film o przygotowaniu kultur wodnych).

Część A

Przygotowanie kultur wodnych ze zmodyfikowaną pożywką Hoaglanda

Sposób wykonania zmodyfikowanej pożywki Hoaglanda z 1M roztworów wyjściowych. Do kolby miarowej lub menzury o pojemności 1 dm^3 nalać około 1/2 litra wody destylowanej. Dodawać 1 molowe roztwory soli mineralnych w ilości podanej w tabeli w cm^3 dla danego rodzaju pożywki. Dopełnić dH_2O do objętości 1 dm^3, dokładnie wymieszać, sprawdzić pH. Przelać gotową pożywkę do słoja szklanego typu Wekka, pomalowanego z zewnątrz na biało, z naklejoną, wypełnioną etykietą.

Tab. Skład zmodyfikowanej pożywki Hoaglanda do kultur wodnych [ilość cm^3 1M roztworu soli/dm^3 pożywki]

Rodzaj soli (roztwór 1M)	Rodzaj pożywki							
	pełna	brak N	brak P	brak S	brak K	brak Mg	brak Ca	Brak Fe
$Ca(NO_3)_2\ 4H_2O$	4		4	4	4	4		4
KNO_3	6		6	6		6	6	6
$MgSO_4\ 7H_2O$	2	2	2		2			2
$NH_4H_2PO_4$	2			2	2	2	2	2
$Mg(NO_3)_2\ 6H_2O$							4	
$MgCl_2\ 6H_2O$				1		1		
Na_2SO_4 bezwodny					6		2	
$NaNO_3$								
$CaCl_2$ bezwodny		4						
KCl		2						
NaH_2PO_4		2						
$NH_4\ NO_3$			1					
1% cytrynian żelaza	1	1	1	1	1	1	1	
Mikroskładniki A (bez S i N)	1		1		1	1	1	1
Mikroskładniki B (z S i N)		1		1				

Pożywka A mikroskładników zawiera następujące sole (w $g \cdot dm^{-3}\ dH_2O$)

3,12 NaCl; 2,83 H_3BO_3; 0,28 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,10 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; 1,10 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$; 0,02 $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ (Starck Z, 2007. Gospodarka mineralna roślin. w: Kacperski J., Lewak S. Fizjologia roślin. Wydawnictwo Naukowe PAN SA, Warszawa).

Pożywka B mikroskładników zawiera następujące sole (w $g \cdot dm^{-3}$ dH_2O)

3,12 NaCl; 0,93 $MgCl_2$ $4H_2O$; 0,13 $ZnCl_2$; 0,07 $CuCl_2$ $2H_2O$; 0,002 MoO_3

Uwaga! Przy zakladniu kultury wodnej kukurydzy prosze dodać podwójna ilośc cytrynianu żelaza.

Część B

Wysadzenie siewek do wazonów

Do wazonów z gotowymi pożywkami (kombinacja pełna- kontrolna, z deficytem N, P i S) wysadzić po trzy siewki kukurydzy lub pomidora w dwóch powtórzeniach. Siewki umocować w otworach pokrywki za pomocą skrawka gąbki tak, aby korzeń sięgał do pożywki i nie być w niej całkowicie zanurzony.

Część C

Pierwszy zbiór roślin do analizy wzrostu rośliny indywidualnej

6 siewek kukurydzy lub pomidora zostawić do oznaczenia początkowej suchej masy i powierzchni liści. W tym celu rozdzielić na organy: u kukurydzy - blaszki liściowe, pochwy liściowe i źdźbło oraz korzenie a u pomidora - blaszki liściowe, ogonki liściowe i łodygi oraz korzenie. Powierzchnię liści oznaczyć metodą wagową.

Metoda wagowa (grawimetryczna) oznaczenia powierzchni liści polega na obrysowaniu konturów odciętych od rośliny blaszek liściowych na papierze. Wycięte, papierowe odwzorowania liści należy zważyć. Z tego samego papieru wyciąć fragment o znanej powierzchni np. 1 dm^2 i zważyć. Znając masę jednostki powierzchni papieru i masę liści papierowych, z proporcji wyliczyć powierzchnię liści w następujący sposób:

Masa papierowego odwzorowania liścia A [g]

Masa 1 dm^2 papieru B [g]

$$\text{Powierzchnia liścia} \quad X = \frac{A}{B\ 100}\ [m^2]$$

Materiał roślinny z pierwszego zbioru umieszczony w opisanych ołówkiem torebkach papierowych (kierunek studiów, numer grupy, nazwisko wykonującego zadanie, nazwa gatunku i organu, zbiór 1, powtórzenie) zabić w suszarce w temperaturze 105˚C (aby uniknąć strat masy spowodowanych oddychaniem tkanek) i wysuszyć w temperaturze 60˚C do stałej suchej masy. Przygotować tabelkę do wpisania wyników.

Kultury wodne pozostawić w szklarni na okres miesiąca.

Część D

Ocena wzrostu i stanu fizjologicznego roślin wyrosłych na pożywce pełnej i z deficytem określonego składnika mineralnego

Po upływie miesiąca dokonać następujących pomiarów w badanych kombinacjach:

Pomiar fluorescencji chlorofilu roślin z deficytem składników mineralnych i kontrolnych

Zbadać fluorescencję chlorofilu na świetle fluorymetrem FMS 2, oznaczając wskaźniki fluorescencji Fs, Fm`i ΦPSII na liściach dolnych (starych) i górnych (młodych) (patrz skrypt Praktikum folder- Wykonanie pomiarów przyrządami i aparatami, plik – Wykonanie pomiaru fluorescencji chlorofilu fluorymetrem FMS2 formy Hansatech).

Pomiar względnej zawartości chlorofilu i flawonoidów roślin z deficytem składników mineralnych

Oznaczyć względną zawartość chlorofilu i flawonoidów miernikiem Dualex 4, oznaczając wskaźniki Chl, Flv, NBI na liściach dolnych (starych) i górnych (młodych) (patrz skrypt Praktikum folder- Wykonanie pomiarów przyrządami i aparatami, plik- Wykonanie pomiaru względnej zawartości chlorofilu i flawonoidów miernikiem Dualex4).

Drugi zbiór roślin do analizy wzrostu - rozdział organów do suszenia i pomiar powierzchni liści metodą fotometryczną

Drugi zbiór roślin do analizy wzrostu rośliny indywidualnej podobnie jak przy pierwszym zbiorze ale pomiaru powierzchni asymilacyjnej dokonać planimetrycznie przy użyciu skomputeryzowanego fotoplanimetrycznego miernika powierzchni liści Li-3000A.

Metoda planimetryczna oznaczania powierzchni opisana jest w skrypcie skrypt Praktikum folder- Wykonanie pomiarów przyrządami i aparatami, plik- Wykonanie pomiaru miernikem powierzchni liści Li 3000A.

- Rośliny podzielić na organy, zbierając także zaschnięte części rośliny i suszyć tak samo jak w pierwszym zbiorze. Przygotować tabelę wyników.

Część E

Obliczenie wskaźników analizy wzrostu

Wstęp

Wskaźnikowa analiza wzrostu

Na podstawie rozdziału IX w " Przewodniku do ćwiczeń z fizjologii roślin" i artykułów (Hunt R, Causton DR, Shipley B, Askew AP, 2002. A Modern Tool for Classical Plant Growth Analysis. Ann Bot 90 (4):485-488 http://aob.oxfordjournals.org/content/90/4/485.full

opracowała dr Anna Dzierżyńska

Analiza wzrostu roślin jest metodą badawczą pozwalająca na całościowe i zintegrowane podejście do powiązania struktury i funkcji rośliny. W klasycznej postaci służyła najpierw do badań z zakresu fizjologii roślin, następnie agronomii a obecnie wykorzystywana jest także w ekologii fizjologicznej i ewolucyjnej. Opierając się na prostych danych pierwotnych w postaci masy organów rośliny i powierzchni asymilacyjnej liści pozwala wyliczyć wskaźniki wzrostu, które umożliwiają scharakteryzowanie przebiegu wzrostu rośliny indywidualnej lub zbiorowiska (łanu) roślin w czasie i wydzielenie składowej strukturalnej i funkcjonalnej wzrostu. Wzrost wynika z gromadzenia produktów fotosyntezy i przejawia się powiększaniem rozmiarów i masy organów asymilacyjnych i całej rośliny. Wskaźniki wzrostu rośliny indywidualnej ułatwiają interpretację tzw. krzywych wzrostu, opisujących dynamikę gromadzenia i rozmieszczenia biomasy pomiędzy organami rośliny w trakcie wzrostu i rozwoju. Wskaźniki wzrostu roślin w łanie pozwalają na ocenę produktywności i plonowania roślin w zbiorowisku, w odniesieniu do zajmowanej przez nie powierzchni.

Metoda analizy wzrostu w wersji interwałowej (przedziałowej) opiera się na zebraniu reprezentatywnej próby roślin na danym etapie wzrostu w celu dokonania pomiaru parametrów wzrostu (masy i powierzchni) metodą destrukcyjną i co najmniej dwukrotnym (zazwyczaj wielokrotnym) powtórzeniu zbiorów w odpowiednio dobranych, stałych odstępach czasu.

W klasycznej formie analizy wzrostu (Hunt R**,** 1990. Basic growth analysis. London: Unwin Hyman) podstawowym parametrem wzrostu rośliny indywidualnej jest wskaźnik **RGR** (relative growth rate) –stopień względnej szybkości wzrostu. Jako jedyny wskaźnik ten może

być stosowany już od momentu kiełkowania nasion, zanim siewka rozpocznie fotosyntezę i przyrost masy.

Składowymi RGR są wskaźniki zdefiniowane i powiązane w następujący sposób:

ULR (unit leaf rate) - stopień jednostkowej produktywności liści, przez wielu autorów określany jako **NAR** (net assimilation rate) - intensywność asymilacji netto. Trzeba zaznaczyć, że wskaźnik ten nie jest miarą fotosyntezy netto. Stopień przyrostu biomasy rośliny jest bowiem zależny także od składników mineralnych pobieranych przez korzenie a ponadto od oddychania wszystkich organów łącznie z tymi, które nie przeprowadzają fotoasymilacji dwutlenku węgla.

SLA (specific leaf area) specyficzna powierzchnia liściowa

LWF (leaf weight fraction) przez wielu autorów określany jako **LWR** (leaf weight ratio) frakcja organów asymilacyjnych

LAR (leaf area ratio) stopień ulistnienia, LAR = SLA · LWR

$$RGR = (1/W)(dW/dt) = (1/L_A)(dW/dt) \cdot A/W = (1/L_A)(dW/dt) \cdot A/W_L \cdot W_L/W$$

$$\mathbf{RGR} = \mathbf{NAR} \cdot \mathbf{LAR} = \mathbf{NAR} \cdot \mathbf{SLA} \cdot \mathbf{LWR} = (\mathrm{ULR} \cdot \mathrm{SLA} \cdot \mathrm{LWF})$$

gdzie:

t- czas wzrostu (nie mniej niż dzień)

W- całkowita sucha masa rośliny

A – całkowita powierzchnia liści na roślinie

W_L - całkowita sucha masa liści na roślinie

RGR, NAR i LAR to wskaźniki główne, NAR składowa funkcjonalna, LAR strukturalna wskaźnika RGR

LWR i SLA to wskaźniki podporządkowane

Wyliczona wartość wskaźników jest uważana za średnią w danym przedziale czasowym. Skrót literowy, znaczenie, wzory do wyliczenia wskaźników i jednostki umieszczone są w tabeli

Tab1. Wskaźniki analizy wzrostu **pojedynczej** rośliny

Skrót literowy, znaczenie	Nazwa	Wzór	Jednostki
RGR = (1/W)(dW/dt)	Względna szybkość wzrostu	$RGR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$	$g\ g^{-1}\ d^{-1}$
NAR = $(1/L_A)(dw/dt)$	Intensywność asymilacji netto	$NAR^* = \frac{W_2 - W_1}{A_2 - A_1} \cdot \frac{\ln A_1 - \ln A_2}{t_2 - t_1}$ $NAR^{**} = \frac{W_2 - W_1}{A_2 - A_1} \cdot \frac{2}{t_2 - t_1}$	$g\ m^{-2}\ d^{-1}$

LAR = A/W	Stopień ulistnienia	$LAR = \frac{\frac{A_1}{W_1} + \frac{A_2}{W_2}}{2}$	$m^2\ g^{-1}$
LWR = W_L /W	Frakcja organów asymilacyjnych	$LWR = \frac{\frac{W_{L1}}{W_1} + \frac{W_{L2}}{W_2}}{2}$	$g\ g^{-1}$
SLA = A/W_L	Specyficzna powierzchnia liściowa	$SLA = \frac{\frac{A_1}{W_{L1}} + \frac{A_2}{W_{L2}}}{2}$	$m^2\ g^{-1}$

1,2 terminy zbioru

* zależność liniowa pomiędzy A i W

** zależność kwadratowa pomiędzy A i W

Wykonanie

- Zważyć wysuszone próbki z 1 i 2 zbioru analizy wzrostu, wpisać wyniki (Sucha masa organów, powierzchnia liści) do tabeli
- Ustalić charakter zależności pomiędzy powierzchnią liści A i masą rośliny W.
- Obliczyć wskaźniki względnej szybkości wzrostu (RGR) pędu i korzeni oraz całej rośliny oraz wskaźniki LAR i NAR według wzoru z tabeli. Dodatkowo określić stosunek masy S/R pędu (łodyga wraz z liśćmi) (S- shoot) do korzeni (R- root) w drugim zbiorze.
- Porównać wpływ niedoborów pokarmowych na wzrost roślin i zinterpretować pozostałe wyniki.

: