

CVIČENÍ 3: VODNÍ PROVOZ (POKRAČOVÁNÍ), MINERÁLNÍ VÝŽIVA

Pokus č. 1: Stanovení celkové a kutikulární transpirace listů analýzou transpirační křivky

Úvod

Analýza transpiračních křivek, založená na vážení odříznutých částí rostlin, nám umožňuje jednoduše demonstrovat regulaci transpirace listu uzavíráním průduchů. Plně dosycený list či rostlina při dostatečném osvětlení zpravidla vypařuje vodu jak otevřenými průduchy (transpirace stomatární), tak kutikulou pokrývající pokožku listu (transpirace kutikulární). Na vzrůstající vodní sytostní deficit reaguje postupným uzavíráním průduchů, čímž se snižuje také stomatární transpirace. Jestliže jsou průduchy plně uzavřené, ztrácí list vodu pouze kutikulou.

Provedení

Plně dosycenou rostlinu (slunečnice, bobu ap.) vložíme stonkem do vytárované Erlenmayerovy baňky s úzkým hrdlem a opatrně umístíme do prostoru analytických vah vyložených vlhkým filtračním papírem tak, aby se nikde nedotýkala stěn. Je nutné počítat s tím, že během doby bude rostlina vadnout a sklánět. Poté provedeme sérii vážení v časech 0 (čerstvá hmotnost), 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, a 70 minut. Po skončeném vážení vložíme rostlinu do hliníkové vysoušečky a dáme sušit při 90°C.

Pokud měření provádíme na klasických analytických vahách, rostlinu nejprve předvážíme na předvážkách. Pak ji přeneseme rychle do prostoru analytických vah a velmi opatrně zavěsíme na háček levého ramene. Opět je třeba dbát na to, aby se rostlina nedotýkala nepohyblivých částí vah ani při postupném vadnutí během pokusu. Poté provedeme sérii vážení v časech 0 (čerstvá hmotnost), 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, a 70 minut. Váhy ponecháme během vážení v intervalech 3 minut odaretovné v určené době provedeme rychlý odečet, protože vlivem úbytku vytranspirované vody je ukazatel vah v neustálém pohybu.

Výpočty a grafy

Z hodnot čerstvé hmotnosti a sušiny vypočteme obsah vody v rostlině v jednotlivých časech měření. V tabulkovém procesoru vytvoříme graf x-y, do něhož vyneseme závislost přirozeného logaritmu obsahu vody na čase. Proložíme přímkou (lineární trend) prvními čtyřmi body grafu a zjistíme její směrnici. Tato směrnice udává rychlost celkové (=stomatární + kutikulární) transpirace. Podobně proložíme druhou přímkou posledními čtyřmi body grafu (odečty ve 40, 50, 60 a 70 min). Směrnice této druhé přímkou udává rychlost kutikulární transpirace.

Úkol: Určete intenzitu stomatární a kutikulární transpirace v mg vytranspirované vody na gram vody v rostlině a čas ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{hod}^{-1}$).

MINERÁLNÍ VÝŽIVA

Pokus č. 2: Určení celkového a adsorpčního povrchu kořenů pšenice

Úvod

Pro stanovení velikosti adsorpčního povrchu kořenové soustavy se vychází z předpokladu, že ionty při adsorpčním nasycení jsou na povrchu kořenů rozloženy v monomolekulární vrstvě. Zároveň je nutné vědět, jak velkou plochu monomolekulární vrstvy zaujme hmotnostní jednotka (1 mg) adsorbované látky. Vhodnou látkou je barvivo methylenová modř (MM), jejíž koncentrace je dobře měřitelná spektrofotometricky.

Provedení

Do tří zkumavek se nalije po 5 ml 0.0002 M roztoku methylenové modři. Do první zkumavky se ponoří na 1.5 minuty kořeny předem připravených rostlin. Po skončené expozici se kořeny rychle přenesou opět na 1.5 min do druhé zkumavky a nakonec do třetí zkumavky - rovněž na 1.5 min. V první a druhé zkumavce jsou kationty MM nasorbovány v jednomolekulové vrstvě na celý povrch kořenů, ve třetí zkumavce ionty z aktivního povrchu pronikají dovnitř kořene a na jejich místo nastupují z roztoku ionty nové - obdobně jako při aktivním příjmu živin. Po skončených expozicích kořeny uchováme pro pyknometrické stanovení jejich objemu.

Velikost úbytku methylenové modři ze zkumavek stanovíme spektrofotometricky. Nejprve roztoky ze zkumavek naředíme 1:10. Pak stanovíme na spektrofotometru koncentrace methylenové modři. Množství, které ubylo dohromady z první a druhé zkumavky, bylo adsorbováno na celkový povrch kořene. Úbytek ze třetí zkumavky byl adsorbován na aktivní povrch.

Po zjištění konkrétního celkového a aktivního povrchu (v m²) provedeme přepočítání na 1 cm⁻³ kořenové hmoty na základě pyknometrického stanovení jejich objemu z další úlohy.

Výpočty

a) Výpočet pohlceného množství methylenové modři v jednotlivých zkumavkách:

$$\text{Množství MM pohlcené v první zkumavce} = (C_0 - C_1) \cdot 5 \text{ [mg]}$$

$$\text{Množství MM pohlcené ve druhé zkumavce} = (C_0 - C_2) \cdot 5 \text{ [mg]}$$

$$\text{Množství MM pohlcené ve třetí zkumavce} = (C_0 - C_3) \cdot 5 \text{ [mg]}$$

kde C_0 = počáteční koncentrace MM, C_1 , C_2 , C_3 = konečná koncentrace MM v první, druhé a třetí zkumavce, objem roztoků = 5 ml.

b) Výpočet plochy monomolekulární vrstvy:

Výchozí 0.0002 M roztok MM vznikl rozpuštěním 0.03 g MM v 1 litru destilované vody, 1 ml roztoku tedy obsahuje 0.03 mg MM. Jeden miligram MM v monomolekulární vrstvě vytvoří plochu 1.1 m².

Úkol: Určete celkový a aktivní adsorpční povrch v m^2 kořenové soustavy mladých rostlin pšenice a v návaznosti na další úlohu jej přepočítejte na jeden cm^3 objemu kořenů ($m^2 \cdot cm^{-3}$).

Pokus č. 3: Stanovení objemu rostlinné tkáně pyknometrem

Úvod

Pyknometrické stanovení objemu těles je jednoduchá metoda využívající vztahu mezi hmotností, hustotou a objemem. Pyknometr je nádoba s definovaným objemem naplněná kapalinou o známé hustotě. Běžně lze použít vodu, jejíž hustota při pokojové teplotě je přibližně rovna $1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Objem tělesa se zjistí jako objem kapaliny, kterou toto těleso v pyknometru svým vlastním objemem nahradí.

Provedení

- a) Na analytických vahách zvážíme suchý prázdný pyknometr (včetně zátky).
- b) Pyknometr naplníme až po okraj destilovanou vodou, mírným poklepáním případně odstraníme bublinky vzduchu, uzavřeme zátkou, hladina vody v trubičce procházející zátkou musí být zároveň s jejím okrajem. Dobře osušíme povrch pyknometru a opět zvážíme.
- c) Zvážíme samostatně rostlinnou tkáň.
- d) Rostlinnou tkáň vložíme do pyknometru, zkontrolujeme, zda po zalití materiálu v pyknometru vodou byly mírným poklepáním nebo skleněnou tyčinkou odstraněny veškeré vzduchové bublinky. Pyknometr uzavřeme, oťřeme povrchovou vytlačenou vodu a znovu zvážíme.

Výpočet:

Objem vzorku rostlinné tkáně vypočítáme tak, že od hmotnosti vody nacházející se v pyknometru bez rostlinné tkáně odečteme hmotnost vody v pyknometru s rostlinnou tkání: tj. vážení $(b-a)-(d-c-a)$.

Úkol: Stanovte objem kořenové soustavy klíčící rostliny jarní pšenice v $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

Pokus č. 4: Stanovení dusičnanů iontově selektivní elektrodou.

Dusičnany patří již delší dobu mezi pečlivě sledované látky v potravinách. V organismech se redukuje na dusitany jejichž negativní působení na lidský organismus může být přímé a rychlé především u kojenců nebo u dospělých lidí pomalé a dlouhodobé v případě reakce s aminy na nitrosaminy. Nebezpečí nitrosaminů spočívá v jejich karcinogenitě. Mezi významné donátory nitrátů v lidské výživě patří kromě pitné vody a uzenářských výrobků i řada intenzivně pěstovaných druhů zelenin, zejména rychlených - pěstovaných v nedostatečně saturovaných světelných podmínkách. Přestože zelenina podle posledních výzkumů patří mezi relativně nejméně nebezpečné zdroje dusičnanů, neboť obsahuje přirozené inhibitory jejich toxicity (vitamín C), patří její monitorování k rutinním činnostem řady zemědělských laboratoří a pracovišť hygieny.

Sledování nitrátů pomocí iontově selektivní elektrody (ISE) patří k velmi často používaným metodám zejména pro svoji rychlost i dostatečnou přesnost.

Provedení:

Očištěný čerstvý (mražený) rostlinný materiál rozkrájíme nebo nastrouháme a dobře promícháme. Z takto připraveného vzorku odvážíme s přesností na 2 desetinná místa navážku 3-5 g, kterou v homogenizeru (mixer) dokonal zhomogenizujeme s 50 ml extrakčního roztoku zahřátého na 80°C.

Homogenát přelijeme do kádinky a necháme 15 minut sedimentovat hrubší částice. Pak vzorek zfiltrujeme přes 2x složenou gázu do 50 ml kádinky. Filtrát ihned měříme dusičnanovou ISE a referenční kalomelovou elektrodou s dvojitým solným mostem. Hodnotu mV odečítáme po ustálení potenciálu na dostatečně citlivém (min. na 1 mV) přístroji. Obsah dusičnanů v ppm zjistíme z kalibrační křivky na semilogaritmickém papíře nebo z připraveného počítačového programu.

Standardní roztoky o koncentracích 10 ppm a 100 ppm připravíme ředěním zásobního roztoku, který obsahuje 1000 ppm NO_3^- . Ředění je nutné provádět extrakčním roztokem. Měříme nejdříve standardní roztok s vyšší koncentrací. Přesnost kalibračních roztoků a funkčnost dusičnanové ISE je zaručena, když mezi oběma standartami je podle Nernstovy rovnice rozdíl potenciálů 58 (± 1) mV.

Výpočet: $\% \text{NO}_3^- = \frac{a \cdot 5}{z}$

a = odečtená hodnota z kalibrační křivky (počítače) v ppm

z = navážka vzorku v mg

$\% \text{NO}_3^- \cdot 10^{-4} = \text{mg NO}_3^- \cdot \text{kg}^{-1}$ čerstvé hmoty vzorku

$\text{NaNO}_3 = \text{NO}_3^- \cdot 1,37$

Úkol: Určete obsah NaNO_3 v $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v různých druzích zeleniny event. vzorcích pitné vody. U košťálovin stanovte obsahy nitrátů v periferní a vnitřní části.

Pokus č. 5: Růstová analýza – 1. odběr (úloha bude zařazena jako součást protokolu ze 4. cvičení!)

Úvod

Růstová analýza umožňuje na základě pravidelných odběrů rostlin nebo částí porostů vypočítat řadu růstově analytických a produkčních charakteristik. Mezi základní hodnoty sledované při odběrech patří zejména hmotnost sušiny rostlin (W) nebo jejich jednotlivých částí (stonků, listů, kořenů ap.), velikost asimilační plochy listů, stébel, klasů apod. (A), plocha pozemku, odkud byl materiál odebrán (P), a časové intervaly mezi odběry (t). K nejčastěji používaným charakteristikám patří: rychlost tvorby sušiny (Crop Growth Rate - CGR), která udává přírůstek hmotnosti rostlin za jednotku času, a relativní rychlost růstu (relative growth rate – RGR), která udává přírůstek hmotnosti rostlin za jednotku času, vztažený na jedntku aktuální biomasy. Čistý výkon asimilace (Net Assimilation Rate – NAR) vyjadřuje produktivitu asimilačního aparátu rostlin. Pokryvnost listoví (Leaf area index, LAI) udává rozměr listové plochy rostliny nebo porostu na jednotce půdy. Poměrná olistěnost (Leaf Area Ratio - LAR) udává poměr velikosti listové plochy a sušiny rostliny.

Provedení:

Ve čtrnáctidenním intervalu odstříhneme rostliny kukuřice těsně nad povrchem půdy, oddělíme všechny zelené listové čepele, u kterých změříme měřítkem jejich délku a šířku v nejširším místě. Potom celou rostlinu (listy i stébla) nastříháme na menší kousky a dáme do sušárny sušit. Pro výpočet velikosti listové plochy použijeme délko-šířkové metody, která vychází u kukuřice z přepočítávacího koeficientu 0.75 (délka x šířka x 0.75). Tato metoda je velmi rychlá, avšak dosti nepřesná vzhledem k možné variabilitě tvarů listů. K výpočtu velikosti listové plochy a vlastních růstových charakteristik lze s výhodou použít výpočetní techniku.

Výpočty:

a) Přírůstek hmotnosti sušiny, rychlost tvorby sušiny (CGR)

$$CGR = \frac{\Delta W}{\Delta t} = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1} \text{ (hmotnost} \cdot \text{čas}^{-1}\text{)}$$

W_1 = hmotnost sušiny prvního odběru

W_2 = hmotnost sušiny druhého odběru

$t_2 - t_1$ = doba mezi jednotlivými odběry

b) Relativní růstová rychlost (RGR)

$$RGR = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1} \text{ (hmotnost} \cdot \text{hmotnost}^{-1} \cdot \text{čas}^{-1}\text{)}$$

c) Poměrná olistěnost (LAR)

$$LAR = \frac{A}{W} \text{ (plocha} \cdot \text{hmotnost sušiny}^{-1}\text{)}$$

Úkol: Vypočtete přírůstek sušiny a listové plochy a relativní rychlost růstu mladých rostlin kukuřice na podkladě dvou odběrů v časovém intervalu 14 dnů, a poměrnou olistěnost pro oba odběry.