Nowa metoda jednoczesnego oznaczania transpiracji i absorpcji wody przez rośliny w kulturach wodnych

A New Method for Simultaneous Determination of Transpiration and Absorption in Water Cultures

J. TARLOWSKI

WSTĘP

W roku 1949 badając wpływ toksycznych koncentracji roztworu soli sodowej kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego (2,4-D) na fasolę (praca nieopublikowana) stwierdziłem między innymi, że już 0,3% roztwór wodny 2,4-D powoduje wyraźne zachwianie bilansu wodnego rośliny. Mianowicie już w 3 dni po opryskaniu roztworem 2,4-D transpiracja roślin doświadczalnych w porównaniu z transpiracją roślin kontrolnych wyraźnie zmalała, gdy jednocześnie zawartość wody w roślinach wzrosła. Doświadczenie powtórzono wiosną 1952 r.¹ z tym samym wynikiem.

Jednakże by móc zbadać dynamikę działania 2,4-D na transpirację i absorpcję wody, potrzebna była metoda pozwalająca w sposób ciągły oznaczać z dostatecznie dużą precyzją równocześnie absorpcję wody i transpirację rośliny doświadczalnej. Bowiem tylko jednoczesne oznaczenie przebiegu absorpcji i transpiracji wody przez roślinę poddaną działaniu substancji regulujących wzrost (jak w tym wypadku 2,4-D) pozwala ustalić szybkość i rodzaj zmian zachodzących w bilansie wodnym rośliny pod wpływem auksyn czy jakichkolwiek innych czynników.

Rozwiązanie tego zadania wymagało zastosowania odpowiedniego aparatu do jednoczesnego rejestrowania przebiegu transpiracji i absorpcji wody przez nieuszkodzoną i niepozbawioną korzeni roślinę.

Przegląd literatury

Oznaczaniem transpiracji i absorpcji wody przez rośliny zajmowało się bardzo wielu fizjologów. Stosowano przy tym najróżnorodniejsze metody.

¹ W wykonaniu brały udział T. Sebyła, W. Winkler - Szymańska i M. Żak, za co im na tym miejscu składam serdeczne podziękowanie.

Za najbardziej dokładne uznano powszechnie metody wagowe (N. Maksimow, 1952, S. Kostyczew, 1933 i in.).

Ilościowe oznaczanie intensywności transpiracji lub samej tylko absorpcji wody nie przedstawia specjalnych trudności, nawet jeśli badacz zamierza śledzić przebieg procesu i prowadzić oznaczenia w sposób ciągły.

Jeśli idzie o wagowe oznaczanie przebiegu transpiracji, to opracowany został cały szereg mniej lub bardziej precyzyjnych aparatów samorejestrujących. Dokładne ich opisy można znaleźć u V. Grafego (1914), A. Burgersteina (1904, 1920), N. Maksimowa (1952).

Burgerstein (1920) dzieli samorejestrujące aparaty służące do oznaczania przebiegu transpiracji na 2 grupy, a mianowicie na aparaty, w których przebieg procesu rejestrowany jest w sposób ciągły („ununterbrochene Registrierung“, „continuous record type“) i na aparaty, w których rejestracja odbywa się skokowo („schrittweise Aufzeichnung“, „step-by step type“), to znaczy, że jednakowe, małe ubytki ciężaru notowane są w pewnych odcinkach czasu, których długość zależy od intensywności procesu. Do licznych aparatów tego typu należy np. opisany ostatnio aparat K. Singha (1953).

Aparatów służących do oznaczania przebiegu absorpcji wody przez korzenie roślin znajdujemy w literaturze znacznie mniej. Zastosowanie metody wagowej jest tu znacznie trudniejsze, to też prototypem niemal wszystkich tego rodzaju przyrządów jest potometr J. Vesque'a (1876), w którym ilość pobranej przez korzenie rośliny wody oznacza się objętościowo.

Najczęściej używanym aparatem tego typu jest znany aparat O. Rennera (1911). Istnieją też aparaty samorejestrujące do oznaczania absorpcji wody.

Wszystkie te aparaty służące do oznaczania absorpcji wody (opisane przez Burgersteina, 1920 i Maksimowa, 1952) mają zasadniczą, wspólną wadę. Mianowicie są one wrażliwe na zmianę temperatury. Pomiar absorpcji wody oparty na zmianie objętości jest przy zmiennej temperaturze obciążony błędem powstającym na skutek cieplnej rozszerzalności wody. Autorzy wymienionych aparatów usiłowali uniknąć tych błędów dwiema drogami: 1) przez zanurzanie czułych na zmianę temperatury części aparatu do bieżącej wody o „stałej“ temperaturze; 2) przez kalibrowanie zbiorników wody w różnych temperaturach i wprowadzanie przy obliczaniu wyników odpowiednich poprawek. Oba te sposoby nie usuwają całkowicie niedogodności tej metody i możliwych źródeł błędów, co jednak nie przeszkadza, że za pomocą tych aparatów uzyskać można mniej lub bardziej poprawne wyniki.

Tak więc zagadnienie oznaczania samej absorpcji wody lub samej transpiracji jest w dużym stopniu rozwiązane. Zupełnie jednak inaczej

przedstawia się sprawa oznaczania transpiracji i absorpcji wody jednocześnie na tej samej roślinie. Pod tym względem zrobiono dotychczas bardzo niewiele, już choćby z tego powodu, że wielu badaczy zakładało — zupełnie błędnie — że oznaczenie jednego tylko z tych procesów określa równocześnie i drugi, gdyż, jak badacze ci sądzili, transpirację można uważać zawsze za równą absorpcji.

Tymczasem jednoczesne oznaczanie przebiegu transpiracji i absorpcji wody u tej samej rośliny jest zadaniem znacznie trudniejszym.

Do bezpośrednich, ścisłych oznaczeń bilansu pobieranej i wyparowywanej przez roślinę wody, do ustalenia wpływu warunków zewnętrznych na stan tego bilansu niezbędny jest odpowiednio skonstruowany aparat. Mimo tak wyraźnej potrzeby nie znalazłem takiego aparatu w literaturze.

Jednym opisanym (Graf e, 1914) projektem takiego przyrządu jest aparat K r u c i c k i e g o (patrz ryc. 1). Opis i rysunek tego aparatu podają według V. G r a f e g o (1914, str. 441—442):

„Na szalce wagi uchyłnej A (oznaczenia moje — J. T.) stoi naczynie szklane B, w którym umieszczona jest zakorzeniona w glebie roślina doświadczalna. Naczynie posiada w pobliżu dna boczny tubus połączony z podwójnie wygiętą rurką szklaną R, zanurzoną w areometrycznym otwartym pływaku S. Pływak ten z kolei zanurzony jest w stojącym obok wagi cylindrze D, wypełnionym wodą. Obok cylindra stoi butelka Mariotte'a, która służy do utrzymania stałego poziomu wody w cylindrze. Powierzchnia wody w pływaku może być przykryta warstwą oleju.

Gdy roślina ssie poprzez syfon R wodę z pływaka, ten ostatni wynurza się z cylindra i wskazuje ilość pobranej wody (górna jego część wyskalowana jest z dokładnością do 1 ml). Jednocześnie wskazówka wagi wykazuje ubytek ciężaru rośliny (z dokładnością do 1 g), powstały na skutek transpiracji.

Aparat może być samorejestrującym. W tym celu na pływaku w pobliżu jego wylotu umieszcza się pierścień z korka, do którego przymocowana jest szklana igła zaopatrzona w przeciwwagę. Igła dotyka powierzchni zaczernionego sadzą bębna mechanizmu zegarowego. Bęben wykonuje jeden obrót na 24 godziny“.

Poza opisem tego aparatu u V. G r a f e g o (1914) oraz u A. B u r g e r s t e i n a (1904) — nie znalazłem żadnej publikacji K r u c i c k i e g o.

Ryc. 1. Aparat K r u c i c k i e g o do oznaczania transpiracji i absorpcji wody (według G r a f e g o, 1914)

k i e g o ani innych autorów, gdzie omawiany aparat znalazłby praktyczne zastosowanie.

Obok wspomnianej wyżej wrażliwości na zmianę temperatury oraz dość małej dokładności (transpiracja do 1 g, absorpcja do 1 ml = 1 g) zasadniczą wadą aparatu K r u c i c k i e g o jest to, że pozwala on oznaczać wielkość transpiracji jedynie pośrednio. Mianowicie waga, na której stoi naczynie z rośliną, wykaże różnicę ciężaru tylko w tym przypadku, jeśli różnica między ilością pobranej z areometru wody a ilością wody wytranspirowanej będzie większa od 1 g. Jeśli natomiast transpiracja i absorpcja będą sobie równe lub różnica w intensywności tych procesów będzie mniejsza niż 1 g, to oznaczenie intensywności transpiracji w sposób bezpośredni będzie niemożliwe (waga nie zmieni położenia). O intensywności transpiracji można wnioskować jedynie na podstawie ilości pobranej z areometru wody. Trzeba przy tym założyć, że ilość ta ściśle odpowiada ilości wody pobranej z gleby przez korzenie. Wydaje się jednak, że założenie takie jest daleko posuniętym uproszczeniem.

Z powyższego opisu wynika, że aparat K r u c i c k i e g o jest także modyfikacją potometru J. V e s q u e ' a, w którym transpirację oznacza się wagowo, a absorpcję objętościowo. Według N. M a k s i m o w a (1952, str. 221) głównym celem wszystkich późniejszych modyfikacji tego potometru „było uzyskanie przyrządu bardziej statycznego, zapewnienie możliwości pobierania wody bez niebezpieczeństwa wprowadzania pęcherzyków powietrza oraz zwiększenie dokładności odczytów objętości wody“.

Tak więc we wszystkich dotychczasowych metodach korzenie roślin badanych były pozbawione nawet najmniejszego pęcherzyka powietrza. Korzenie roślin mogły zatem oddychać normalnie tak długo, jak długo starczało tlenu, rozpuszczonego w danej objętości wody otaczającej korzenie.

O tym, że opisane dotychczas w literaturze aparaty służące do automatycznego oznaczania transpiracji czy absorpcji wody nie spełniają należycie swego zadania i wymagają dalszego udoskonalania, świadczy fakt, że nawet w ostatnich latach czynione są próby takich udoskonaleń. Za przykład może służyć wspomniany już aparat K. S i n g h a (1953).

Opisany poniżej aparat można oczywiście również traktować jako dość daleko posuniętą modyfikację potometru J. V e s q u e ' a. Jednakże w odróżnieniu od metod dotychczasowych absorpcja oznaczana jest tak samo jak transpiracja — wagowo, dostęp powietrza do korzeni nie jest przeszkodą, lecz warunkiem oznaczeń, a zmiany temperatury nie wywierają wpływu na dokładność oznaczeń.

ZASADA METODY

Roślina wyhodowana w kulturze wodnej umocowana jest w szczelnie zamkniętej kolbie A (patrz ryc. 2), zawierającej określoną ilość pożywki, w której zanurzone są korzenie. Nad powierzchnią pożywki w kolbie znajduje się pewna ilość powietrza. W korku zamykającym kolbę umieszczona jest rurka szklana, która za pośrednictwem cienkiej, lekkiej i bardzo elastycznej rurki gumowej łączy powietrze zawarte w kolbie A z powietrzem zawartym w kolbie B. Kolba B wypełniona jest częściowo powietrzem a częściowo wodą. Za pośrednictwem rurki szklanej, przeprowadzonej

Ryc. 2. Widok ogólny zestawu doświadczalnego aparatu do jedno-
czesnego oznaczania transpiracji i absorpcji wody

przez korek uszczelniający kolbę B, oraz cienkiej i lekkiej rurki gumowej i wreszcie zgiętej pod kątem 90° rurki szklanej zakończonej kapilarą łączy się ona z wodą zawartą w kolbie C. Woda w kolbie C zalana jest warstwą oleju parafinowego. Kolba A wraz z umieszczoną w niej rośliną stoi na szalce wagi I. Kolba C stoi na szalce wagi II.

Działanie wyżej opisanego układu jest następujące:

Wskutek transpiracji pary wodnej przez roślinę równowaga wagi I zostaje zachwiana (szalka wagi, na której stoi kolba z rośliną, staje się lżejsza i unosi się do góry). Wychylenie wagi powoduje zamknięcie obwodu prądu, zrzut odważnika na szalkę wagi, na której stoi kolba z rośliną oraz zapis na taśmie rejestrującej. (Schemat układu elektrycznego oraz opis przyrządów samorejestrujących podany jest niżej).

O ile wskutek transpiracji ubyła woda tylko z rośliny, nic więcej nie nastąpi. Jeśli jednak równocześnie roślina transpirująca pobrała cokolwiek wody z kolbki, to zmniejszenie się objętości wody powoduje zwiększenie się objętości przestrzeni zajętej przez powietrze nad wodą w kolbie, a więc zmniejszenie się ciśnienia zamkniętego tam powietrza. Wskutek powstałej w ten sposób chwilowej różnicy ciśnień powietrza zawartego w kolbie A i w kolbie B zachodzi ssanie powietrza z kolby B (w miejsce pobranej przez korzenie rośliny wody). Z kolei spadek ciśnienia powietrza

w kolbie B powoduje wtłoczenie do niej przez ciśnienie atmosferyczne wody z kolby C za pośrednictwem łączących je rurek. A zatem taka sama ilość wody, jaką korzenie rośliny pobrały z kolby A, zostanie natychmiast wypchnięta z kolby C do kolby B. Ubytek wody w kolbie C powoduje wychylenie wskazówki wagi II, zamknięcie obwodu prądu, zrzucenie odważnika na szalkę, na której stoi kolba C i zapis na taśmie rejestrującej. W ten sposób na obu wagach rejestrowana jest jednocześnie transpiracja i absorpcja wody przez roślinę.

Jednakże drobne nawet zmiany temperatury takiego układu mogą spowodować zaburzenia prawidłowości oznaczeń. Mianowicie obniżenie temperatury powoduje kurczenie się powietrza zawartego w kolbie A i B, a co za tym idzie przelew wody z kolby C. Odwrotnie — wzrost temperatury powoduje wzrost ciśnienia zamkniętego w kolbach A i B powietrza, co powoduje przelewanie się wody z powrotem do kolby C. A więc najdrobniejsze nawet wahania temperatury uniemożliwiłyby prawidłowe oznaczanie absorpcji wody. (Zmian objętości wody zachodzących wskutek zmiany temperatury nawet nie omawiam, gdyż w porównaniu ze zmianami ciśnienia powietrza dawałyby one nieporównanie mniejszy błąd).

W celu wyeliminowania wpływu temperatury na objętość powietrza zawartego w kolbach A i B umieszcza się na przeciwnych szalkach obu wag kolby wchodzące w skład analogicznego zestawu, lecz bez rośliny. Zestaw ten zawiera taką samą ilość powietrza, pożywki i składa się z takich samych kolb, rurek szklanych i gumowych, korków itd. Ustawiony jest na przeciwnych szalkach obu wag również dlatego, aby nagrzewanie się i stygnięcie obu układów było podczas doświadczenia jednakowe. W ten sposób jeśli temperatura w zasięgu obu wag jest jednakowa, to oba układy: doświadczalny i kontrolny, reagują na zmiany temperatury jednakowo, a więc wpływ temperatury niweluje się. Na przykład, jeśli pod wpływem przerwania oświetlenia temperatura obniży się i powietrze zawarte w kolbach A i B układu doświadczalnego skurczy się i wskutek tego zacznie się przelewać woda z kolby C do kolby B, to jednocześnie identyczny proces rozpocznie się w kolbach układu kontrolnego, który równoważy na obu wagach układ doświadczalny. Dzięki temu spadek temperatury nie zmieni równowagi obu układów. (Na ryc. 2 układ kontrolny pominięto).

APARATURA

Wagi. Po przebadaniu kilku typów wag zastosowano (w opisanym poniżej aparacie) wagi recepturowe produkcji krajowej (PZMP, typ WR-I) o nośności 200 g i czułości 0,01 g.

Mechanizm automatycznie zrzucający odważniki. W literaturze można znaleźć szereg typów mechanizmów służących do automatycznego zrzucania odważników. Po wypróbowaniu kilku z nich za-

stosowano oryginalny mechanizm (zaprojektowany i wykonany przez Stefana Skulimowskiego).

Na poziomej osi osadzony jest w pozycji pionowej mosiężny sektor koła A (patrz ryc. 3). W przedniej części jego łuku wycięty jest rowek na głębokość równą średnicy jednego odważnika (2,5 mm). Nad wycięciem w sektorze umieszczony jest magazynek ze szklanej rurki, mieszczący 150 odważników. Rurka jest znakowana, co pozwala w każdej chwili ustalić ilość pozostających w magazynku odważników. Sektor utrzymywany jest w pozycji pionowej przez przeciwwagę C i górną krawędź zastawki D. Na tej samej osi co sektor osadzona jest kotwica E elektromagnesu F. Pod wylotem wycięcia sektora, prostopadle do osi umieszczona jest rynna G, której dolny koniec nacelowany jest na naczynko stojące na szalce wagi. Wypadaniu z naczynka spadających z dużą prędkością odważników zapobiega gumowy krążek wyściełający dno naczynka.

Pod wpływem impulsu prądu, przepływającego przez cewkę elektromagnesu rdzeń H przyciąga kotwicę, wychyla sektor do przodu, powodując wypadnięcie odważnika. Po otwarciu obwodu prądu przeciwwaga cofa sektor do pozycji wyjściowej, a następny odważnik, który podczas ruchu sektora ślizgał się po jego łuku, wpada w zagłębienie.

Odważniki. Rolę odważników spełniają stalowe kulki do łożysk kulkowych o średnicy 2,5 mm. Średni ciężar odważnika wynosi 0,0634 g. Wahania ciężaru poszczególnych odważników nie przekraczają ± 20 μ . Ten rodzaj odważników spełnia dobrze swoje zadanie, gdyż mają one kształt prawidłowej kuli i bardzo gładką powierzchnię.

Styki zamykające obwód prądu. Wypróbowano szereg styków słaboprądowych. Dokładność pomiaru w dużym stopniu zależy od rodzaju styku. Opisane w literaturze styki ręciowe są bardzo zawodne, gdyż nawet pod warstwą cieczy chroniącej je przed dostępem powietrza rtęć łatwo ulega oksydacji i zwarcie nie jest pewne.

Ryc. 3. Schemat mechanizmu automatycznie zrzucającego odważniki.

A — sektor koła; B — magazynek szklany z odważnikami; C — przeciwwaga; D — zastawka kotwicy; E — kotwica elektromagnesu; F — elektromagnes; H — rdzeń elektromagnesu; G — rynna

W opisanym aparacie zastosowano styki platynowe, nalutowane na cienkie (0,2 mm), płaskie sprężynki z fosforobrazu. Styki ustawione są na wprost strzałki wagi. Opór stawiany przez sprężynkę styku jest tak mały, że wskazówka wagi pod wpływem obciążenia szalki ciężarem 0,02 g dopycha sprężynkę i zwiiera styk.

Aparat rejestrujący. Intensywność transpiracji i absorpcji odpowiada częstotliwości, z jaką zrzucane są odważniki na szalki odpowiednich wag.

Zrzuty poszczególnych odważników rejestrowane są na taśmie papierowej, przesuwałej się ruchem jednostajnym wraz z bębnem obrotowym kimografu (w opisanym układzie posługiwano się kimografem produkcji amerykańskiej — Phipps Bird Inc. Richmond V. A.). Ustawiony poziomo bęben kimografu zaopatrzony jest w ostrza stalowych igieł. O ostrza igieł zaczepia taśma, wykonuje wraz z bębnem pół obrotu, po czym swobodnie spada w dół. Poślizgowi taśmy na bębnie zapobiegają 4 gumowe rolki dociskające taśmę do powierzchni bębna.

Nad bębnem styknie do jego powierzchni umieszczone są 2 piórka osadzone na stalowych dźwigniach. Piórka znaczą stale na powierzchni taśmy 2 równoległe linie. Dźwignie obu piórek umieszczone są obok rdzeni 2 elektromagnesów. W momencie zrzutu odważnika przez elektromagnes przepływa prąd, gdyż są one włączone szeregowo w jeden obwód z mechanizmem zrzucającym odważniki. Dźwignia piórka zostaje w tym momencie przyciągnięta przez elektromagnes. W ten sposób na taśmie powstaje zapis.

Taśma przesuwa się z prędkością 1080 do 1100 mm na godzinę (w zależności od napięcia prądu w sieci), 1 mm taśmy odpowiada więc 3,33 do 3,27 sek.

Odcinki taśmy odpowiadające poszczególnym godzinom, podczas których przeprowadzane jest doświadczenie, znaczone są przy pomocy trzeciego piórka włączonego w odrębny obwód prądu.

Przy pomocy wyżej opisanego aparatu rejestrującego umożliwiające jest samoczynne notowanie przebiegu transpiracji i absorpcji wody przez dowolnie długi okres czasu bez przerwy. Dzięki temu, że taśma nie nawija się na bęben, lecz po przejściu połowy jego obwodu spada swobodnie — osiąga się dwie korzyści: 1) natychmiast po zejściu taśmy z bębna można odczytywać odcinki czasu odpowiadające kolejnym zrzutom odważników, a co za tym idzie — śledzić ściśle przebieg doświadczenia; 2) każdej godzinie odpowiadają jednakowe odcinki taśmy, co niezmiernie ułatwia i upraszcza obliczenia.

Kontrola zrzutów. W obwód prądu obsługującego każdą wagę włączona jest cewka numeratora, który przy każdym zrzucie daje sy-

gnał dźwiękowy i wyrzuca odpowiedni numer. Urządzenie to pozwala sprawdzać działanie aparatury.

Źródło prądu i schemat połączeń elektrycznych. Schemat obwodu prądu przedstawia ryc. 4.

Źródłem prądu zmiennego jest sieć miejscowa o napięciu 220 V. Spadek napięcia uzyskuje się przy pomocy transformatora z 220 na 115 V oraz opornicy suwakowej na 1950 ohmów. Obydwie wagi obsługuje jedno źródło prądu².

Ryc. 4. Schemat połączeń elektrycznych.

A_1 i A_2 — styki zamykające obwód prądu; B_1 i B_2 — zwojnice elektromagnesów mechanizmu zrzucającego odważniki; C_1 i C_2 — zwojnice cewek obsługujących piórka; D_1 i D_2 — zwojnice cewek numeratora; E — opornica zmienna na 1950 ohmów; F — transformator prądu zmiennego z 220/115 V; G — odprowadzenie do sieci

DOŚWIADCZALNE SPRAWDZENIE METODY

Celem sprawdzenia przydatności opisanej metody wykonano szereg doświadczeń.

Przedmiotem badań była fasola karłowa (*Phaseolus vulgaris* L. var. *nanus* M e r t e n s), odmiana szparagowa o zielonych strąkach Saxa (z Zakładu Warzywnictwa SGGW, Skierniewice, 1953). Rośliny hodowano w kulturze wodnej na pożywcze Knopa, początkowo w warunkach laboratoryjnych, w pokoju na południowym oknie (III-V. 1954), a następnie w hali wegetacyjnej (VI-VIII.1954).

² Opisane wyżej części aparatu wykonane zostały całkowicie w warsztacie mechanicznym Zakładu Fizjologii Roślin SGGW w Warszawie przez mechanika precyzyjnego Stefana Skulimowskiego, za co mu na tym miejscu składam serdeczne podziękowanie.

Wszystkie niżej przytoczone doświadczenia przeprowadzone były w oszklonym termostacie (o wymiarach $65 \times 70 \times 100$ cm), umieszczonym w ciemni. Temperaturę i wilgotność powietrza rejestrowano podczas doświadczeń przy pomocy dobowych termografów i hygrografów (G. U. C. M. S., Ryga, 1952).

Rośliny oświetlane były światłem elektrycznym przy pomocy 10 lamp żarowych po 150 Watt, umieszczonych w 2 rzędach nad termostatem. Odległość poszczególnych lamp od rośliny wynosiła od 50 do 90 cm. Lampy chłodzono wodą bieżącą. Światło przechodziło przez około 5—8 mm warstwę wody i przez 2 szyby o łącznej grubości 8 mm. Nad lampami umieszczono ekran z blachy ocynowanej, odbijający światło. Warunki oświetlenia zmieniano w sposób nagły (przez zapalanie lub wygaszanie wszystkich lamp jednocześnie). W „nocy” roślinę oświetlano jedynie podczas dokonywania odczytów na przyrządach pomiarowych z odległości około 50 cm przy użyciu latarki kieszonkowej (0,7 W).

Aby uniknąć nadmiernej wilgotności powietrza, wstawiono do termostatu naczynie z bezwodnym chlorkiem wapnia.

Z 11 doświadczeń przeprowadzonych przedstawioną metodą opisano poniżej 3, na których zilustrowano przebieg oznaczeń oraz dostrzeżone błędy metodyczne.

Doświadczenie 7

Roślina nr 63 (45-dniowa) wyhodowana w pracowni na oknie południowym. Od rozwinięcia pierwszych liści rosła przy oświetleniu dziennym (za podwójną szybą okienną). W dniu doświadczenia, 19 maja 1954, miała 5 pięter liści. Starsze liście dobrze wykształcone, lecz bardzo cienkie i delikatne. Cała roślina lekko wypłoniąta.

Dzień poprzedzający doświadczenie był pochmurny i chłodny. Temperatura około $20-22^{\circ}$, wilgotność powietrza około 60%.

Powierzchnia liści³ wynosiła $477,61 \text{ cm}^2$. Świeża masa rośliny 16,35 g.

Roślinę wyjęto z naczynia, w którym rosła, o godz. 0.05. Po oznaczeniu świeżej masy przeniesiono do kolby o pojemności 120 ml zawierającej 100 ml pożywki (tej samej, w której dotychczas roślina rosła). Łodygę rośliny osadzono w korku gumowym i uszczelniono przy pomocy waty nasyczonej lanoliną. Od godz. 0.20 do godz. 2.00 roślina znajdowała się w termostacie przy pełnym oświetleniu, a zatem miała przerwany okres nocnej ciemności.

Oznaczanie absorpcji i transpiracji rozpoczęto o godz. 2.00 dnia 19.V.54, a zakończono o godz. 4.00 dnia 20.V.54. Oświetlenie włączono

³ Powierzchnię liści oznaczano (w tym i w następnych doświadczeniach) metodą światłoczułą, na papierze amoniakalnym. Metoda opisana przez I. Rożniatowskiego (1954).

o godz. 4.30, a wyłączono o godz. 19.30. W czasie trwania doświadczenia kilkakrotnie otwierano termostat. Temperatura i wilgotność powietrza w termostacie i w ciemni nie była wyrównana, wskutek tego każdorazowe

Ryc. 5. Wycinek empirycznego diagramu przedstawiającego intensywność transpiracji i absorpcji wody (Doświadczenie nr 7)

otwarcie drzwi powodowało drobne zmiany temperatury i wilgotności powietrza. Zmiany te uwidocznione są na wykresie wilgotności i temperatury powietrza (patrz ryc. 6).

Ryc. 6 przedstawia przebieg transpiracji i absorpcji wody. Intensywność tych procesów wyrażono na tym i na następnych wykresach w miliagramach na minutę. Tę zmienną odkładano na osi rzędnych, zaś na osi odciętych — czas w godzinach.

Wykres wykonano w sposób następujący:

W zależności od intensywności transpiracji czy absorpcji wody na taśmie rejestrowane są dłuższe lub krótsze odcinki, których długość jest proporcjonalna do czasu potrzebnego na wyparowanie lub pobranie przez roślinę 0,0634 g wody. Z długości każdego odcinka wyliczano czas w se-

Ryc. 6. Doświadczenie 7. Intensywność transpiracji i absorpcji wyrażona w mg/min. Gruba linia — transpiracja; cienka linia — absorpcja. Krzywe w górnej części ryc. przedstawiają zmienność temperatury i względnej wilgotności powietrza w termoskacie podczas doświadczenia.

kündach z dokładnością do 0,1 sek. Liczba 3804 ($63,4 \times 60 = 3804$), dzielona przez otrzymaną wielkość, daje intensywność procesu w danym odcinku czasu, wyrażoną w mg/min.

Na osi odciętych (patrz ryc. 5) odkładano czas (w skali: 1 min. = 1 mm), a na osi rzędnych intensywność procesu w mg/min. (1 mg/min = 20 mm). Tak więc każdemu odcinkowi czasu pomiędzy kolejnymi zrzutami odpowiadał na diagramie słupek, którego wysokość określała intensywność procesu w tym okresie.

Ryc. 5 przedstawia wycinek takiego empirycznego diagramu. Jak widać wysokość poszczególnych sąsiednich słupków ulega dość znacznym wahaniom, które powstały nie na skutek zmian w intensywności procesu, lecz są spowodowane błędami doświadczalnymi. Na błędy te składają się trzy przyczyny:

1. Przy dużej intensywności procesu wynoszącej np. 32 mg/min. błąd w odczycie długości odcinka taśmy wynoszący 1 mm (co odpowiada 3,33 sek.) powoduje zmianę obliczonej wielkości intensywności procesu o 0,877 mg/min., co stanowi 2,79%. Przy mniejszej intensywności błąd ten odpowiednio maleje. Np. przy intensywności 5 mg/min. to znaczy, gdy odważniki spadają co 12 min. 40 sek., co odpowiada odcinkowi taśmy 22,8 cm, błąd ten wynosi zaledwie 0,012 mg/min., czyli 0,0002%.

2. Jak wiadomo, długość odcinka taśmy odpowiadająca kolejnym zrzutom odważników zależy od szybkości obrotu bębna kimografu. W opisanych doświadczeniach nie była ona jednakowa. Szybkość obrotu motorka napędzającego bęben wahała się w zależności od napięcia prądu w sieci miejscowej. Jak podano wyżej, długość odcinka taśmy odpowiadająca 1 godz. wahała się od 1080 do 1100 mm, a przy znacznych spadkach napięcia, w godzinach maksymalnego obciążenia sieci — wahania były jeszcze większe. Zmiany szybkości obrotu bębna były więc drugim źródłem błędów tym groźniejszych, że trudnych do uchwycenia.

3. Aparat zainstalowano w gmachu sąsiadującym z dość ruchliwą ulicą. Każdy wstrząs (wywołany przez przejeżdżające tramwaje, ciężkie pojazdy mechaniczne itp.) powodował więc drgania delikatnych i czułych sprężyn stykowych, co w rezultacie powodowało wcześniejszy zrzut odważnika.

Błędy omówione w punkcie 1 i 3 niwelują się w dwóch lub trzech sąsiednich odcinkach czasu. Natomiast błędy powstające wskutek nierównomiernego ruchu taśmy można usunąć jedynie przez zastosowanie synchronicznego silnika do napędu bębna.

Krzywe przedstawione na ryc. 6 wykreślono przez wyliczenie średniej transpiracji i absorpcji dla każdego 10 minut. Na ten sam wykres naniesiono temperaturę i względną wilgotność powietrza w termostacie podczas doświadczenia.

W omawianym doświadczeniu ilość powietrza zamkniętego w obu zestawach (doświadczalnym i kontrolnym) nie była jednakowa. Mianowicie w zestawie kontrolnym ilość powietrza była o około 10 ml większa niż w zestawie doświadczalnym. Wskutek tego przy nagłych zmianach temperatury (po zapaleniu i zgaszeniu lamp) powietrze zamknięte w zestawie kontrolnym uległo większemu rozprężeniu (lub skurczeniu) niż w zestawie doświadczalnym. Spowodowało to z kolei wyparcie (lub ssanie) wody z kolby C. W ten sposób równowaga wagi II została zachwiana. Spowodowało to błędy w oznaczeniu absorpcji wody od godz. 4.30 do 6.30 (gdyż w tym czasie po zapaleniu lamp temperatura wzrosła o 3°) oraz od godz. 19.30 do 22.00 (gdyż w tym czasie po zgaszeniu lamp temperatura spadła o 5°). Ponieważ wyniki oznaczeń absorpcji w tych okresach były niemiernodajne, więc pominięto je na wykresie.

Następne doświadczenie poświęcono zbadaniu wielkości błędów (powstających przy nagłych zmianach temperatury), wywołanych różnicą objętości powietrza zamkniętego w zestawie doświadczalnym i kontrolnym. W tym celu doświadczenie przeprowadzono na roślinie o małej powierzchni liści.

Doświadczenie 8

Roślina nr 4 (17-dniowa) wyhodowana w hali vegetacyjnej. W dniu doświadczenia, 29 lipca 1954, miała dobrze wykształcone 2 pierwsze liście o łącznej powierzchni 74,92 cm². Waga świeżej masy rośliny wynosiła 7,40 g.

Dzień poprzedzający doświadczenie był pogodny i ciepły. Temperatura 24—28°, wilgotność powietrza 50%.

Po oznaczeniu świeżej masy roślinę przeniesiono do kolby A zawierającej 100 ml pożywki. Doświadczenie trwało od godz. 23.00 dnia 29.VII. 1954 do godz. 3.17 dnia 31.VII.1954.

W zestawie kontrolnym ilość powietrza była o około 22,5 ml większa niż w zestawie doświadczalnym. Zapalenie światła o godz. 4.00 spowodowało wzrost temperatury w ciągu 2 godz. o 5°. Wskutek tego powietrze zawarte w zestawie kontrolnym rozszerzyło się o około 0,38 ml, co spowodowało wypchnięcie wody do kolby C (zestawu kontrolnego). Z kolei spowodowało to w ciągu tego czasu 6 dodatkowych zrzutów odważników ($63,4 \times 6 = 380,4$ mg).

Po wyłączeniu światła o godz. 19.30 układ w analogiczny sposób reagował na spadek temperatury. Wskutek wessania wody do kolby C zestawu kontrolnego szalka wagi II, na której stała kolba C zestawu doświadczalnego, uniosła się do góry i od godz. 20.00 do godz. 24.00 zrzuty odważników ustały.

Ryc. 7. Doświadczenie 8. Intensywność transpiracji i absorpcji wyrażona w mg/min. Gruba linia — transpiracja; cienka linia — absorpcja. Krzywe w górnej części ryc. przedstawiają zmienność temperatury i względnej wilgotności powietrza

Wykres na ryc. 7, ilustrujący przebieg transpiracji i absorpcji wody w doświadczeniu 8, uwidacznia wyraźnie błędy oznaczeń, jakie mogą powstać wskutek zamknięcia w zestawie doświadczalnym i kontrolnym niejednakowych ilości powietrza. Rozszerzalność wody w warunkach doświadczeń cytowanych można pominąć, gdyż przy różnicy zawartości wody w kolbach A i B nie przekraczającej 25 ml zmiana temperatury o 10° powoduje zmiany objętości rzędu 0,002 ml, co odpowiada 2 mg.

Doświadczenie 10

Roślina nr 25 (42-dniowa) wyhodowana w hali wegetacyjnej. W dniu doświadczenia, 23 sierpnia 1954, miała 5 pięter liści.

Powierzchnia liści $413,59 \text{ cm}^2$. Waga świeżej masy 20,25 g. Objętość korzeni $7,5 \text{ cm}^3$. Liście górnych pięter żółto-zielone.

Dzień poprzedzający doświadczenie był dość pogodny. Temperatura wahała się od 10° (w nocy) do 28° (w południe). Wilgotność powietrza od 100% (w nocy) do 50% (w południe).

Roślinę wyjęto z naczynia, w którym rosła, o godz. 18.00 i umieszczono w tym samym roztworze w kolbie A. Doświadczenie rozpoczęto o godz. 19.00. Światło zgaszono o godz. 19.30, a zapalono o godz. 6.30 dnia 24.VIII. 1954 i powtórnie zgaszono o godz. 19.00. Roztwór (pożywkę) przed zamknięciem w kolbie A starannie przewietrzono.

Wykres na ryc. 8 przedstawia przebieg transpiracji i absorpcji wody.

Ryc. 8. Doświadczenie 10. Intensywność transpiracji i absorpcji wyrażona w mg/min. Gruba linia — transpiracja; cienka linia — absorpcja. Krzywe w górnej części ryc. przedstawiają zmienność temperatury i względnej wilgotności powietrza

W doświadczeniu 10 ilość powietrza zamkniętego w obu zestawach wyrównano starannie z dokładnością do 0,05 ml. Dzięki temu widzimy, że zmiany temperatury przy zapalaniu i gaszeniu światła nie powodują zaburzeń w oznaczeniach absorpcji wody.

W doświadczeniu 10 zwraca uwagę mała intensywność zarówno transpiracji, jak i absorpcji wody. W przeliczeniu na powierzchnię transpirującą intensywność transpiracji wynosi zaledwie 2,68 g na 1 dm² na 24 godz., podczas gdy w doświadczeniu 7 i 8 (w zbliżonych warunkach temperaturowych, wilgotności powietrza i przy tym samym oświetleniu) odpowiednie wielkości wynosiły 5,98 g i 5,31 g na 1 dm² w ciągu 24 godz.

Fakt ten tłumaczy się tym, że w doświadczeniu 10 wskutek nazbyt wysokiego pH pożywki (powodującego wytrącenie się żelaza) roślina wykazywała objawy silnej chlorozy, a zatem normalny przebieg jej procesów życiowych był poważnie zaburzony.

WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można wyciągnąć następujące wnioski odnośnie przydatności opisanej metody.

1. Omawianą metodą można oznaczać w sposób ciągły jednocześnie transpirację i absorpcję wody przez rośliny w kulturach wodnych z dostatecznie dużą dokładnością w tych przypadkach, gdy intensywność ba-

danych procesów jest większa niż 1 mg/min. Granicę tę zakreśla ciężar odważników (63,4 mg). Przy takiej bowiem intensywności okres dzielący zrzuty dwóch kolejnych odważników wynosi już więcej niż 1 godzinę (63 min. i 24 sek.).

2. Przy badaniu intensywności transpiracji i absorpcji wody przez rośliny o dużej powierzchni liści, gdy intensywność procesów przekracza 30 mg/min., należy stosować bęben o większej średnicy lub też zwiększyć szybkość jego obrotów, aby można było dokładniej oznaczać długość od-cinków taśmy pomiędzy poszczególnymi zrzutami.

3. Gdy doświadczenie prowadzone jest przy szybko i znacznie zmieniającej się temperaturze, należy w obu zestawach (doświadczalnym i kontrolnym) zamykać dokładnie jednakowe ilości powietrza. Pozwoli to uniknąć opisanych wyżej błędów, spowodowanych rozszerzalnością powietrza zamkniętego w układzie.

4. Dokładność oznaczeń w dużym stopniu zależy od stopnia elastyczności styków zamykających obwód prądu. Aby uniknąć błędów spowodowanych drżeniem styków, należy doświadczenie prowadzić w miejscu zabezpieczonym przed wstrząsami.

Zasadniczą wadą metody jest konieczność przeprowadzania doświadczeń w zamkniętych pomieszczeniach, wykluczających ruch powietrza. Należy bowiem pamiętać, że podczas doświadczenia obie wagi są stale otwarte.

Drugą istotną wadą metody jest jej ograniczoność, jeśli idzie o wielkość badanych roślin. Mianowicie na badanie małych roślin nie pozwala granica czułości metody (wielkość odważników i czułość wag). Natomiast duże rośliny mające silnie rozwinięty system korzeniowy wymagają dużej ilości tlenu do oddychania. Ilość powietrza, jaką można zamknąć w kolbie A, jest ograniczona pojemnością kolby, a ta z kolei nośnością wagi (200 g). Poza tym silnie rozkrzewionej rośliny nie można umieścić na szalce wagi tak, aby nie dotykała belki i nie hamowała jej ruchu.

Z tego, co zostało wyżej powiedziane, wynika, że opisana metoda może być przydatna w laboratoryjnych badaniach intensywności transpiracji i absorpcji wody przez niewielkie rośliny w kulturach wodnych.

Badania mogą być prowadzone przy dowolnej temperaturze i wilgotności powietrza, przy dowolnym oświetleniu lub w ciemności, przy dowolnym składzie pożywki przez dowolnie długi okres czasu.

SUMMARY

A new method for determining simultaneously both transpiration and water absorption of plants in water cultures is described.

For determining the transpiration rate the loss in weight of the vessel in which the plant grows is measured. Absorption rate is estimated by measuring the loss in the weight of water in the vessel. The decrease in the water volume in the closed vessel causes a drop in pressure of the enclosed air and produces a corresponding flow of water from another vessel connected with the first one by an elastic tube; the latter vessel is open. Both vessels are placed each on the scale of a different balance.

The apparatus is selfrecording. A loss in weight on either of the two balances is compensated by loads of 0,0634 grams which are dropped automatically on the scales. The fall of the load is registered on a paper strip.

Readings can be registered even in changing temperatures, as there is a controlling arrangement compensating the volume changes of the air enclosed in the system caused by temperature changes.

The results from 11 experiments in which beans were used (seedlings from the 17-th to the 45-th day) have shown that the new method may be of use for laboratory determining the water balance of plants in water cultures.

LITERATURA

- Burgerstein A., 1904, *Die Transpiration der Pflanzen. Eine physiologische Monographie*, Jena.
- Burgerstein A., 1920, *Die Transpiration der Pflanzen. II Teil (Ergänzungsband)*, Jena.
- Grafe V., 1914, *Ernährungsphysiologisches Praktikum der höheren Pflanzen*, Berlin.
- Kostyczew S. P., 1933, *Fizjologija rastienij*, cz. I, Gos. izd. kol. sowch. lit., Moskwa-Leningrad.
- Maksimow N. A., 1952, *Izbrannyje raboty po zasuchoustojczivosti i zimostojkosti rastienij*, t. I., Izd. Akad. Nauk SSSR, Moskwa.
- Renner O., 1911, *Flora*, 103, 171—247.
- Różniatowski I. I., 1954, *Botaniczeskij Žurnal* 39, nr 3, 419—420.
- Singh K., 1953, *Ann. of Botany*, 65, 189—191.
- Vesque J., 1876, *Ann. Sc. Nat.*, 6 sér. Bot. 4: 89—137.