Badania nad oddychaniem korzeni. Cz. I.

Recherches sur la respiration des racines. Part. I

S. GUMIŃSKI, W. CZERWIŃSKI, E. UNGER, A. BACOWA

WSTĘP

Badania nad stymulacją wegetacji roślin przez próchnicę, przeprowadzane w Instytucie Botanicznym Uniwersytetu Wrocławskiego, doprowadziły do postawienia hipotezy tłumaczącej działanie próchnicy w ten sposób, że próchnica jako układ chinonowy pełni rolę akceptora wodoru w procesie oddychania korzeni (Gumiński i Gumińska, 1953).

Również wyniki badań Christiewej (1953) wskazują na znaczenie związków próchnicznych w procesie oddychania roślin. Autorka stwierdziła wzrost intensywności oddychania kielków jęczmienia pod wpływem związków próchnicznych i podała teorię biochemiczną, tłumaczącą to zjawisko.

Oznaczenia Christiewej odnoszą się do materiału roślinnego, oddychającego przy obfitym dostępie powietrza, a więc w warunkach różnych od naszych poprzednich doświadczeń. Wyniki tej autorki nie mogą zatem stanowić podstawy do wytłumaczenia faktu, że efekt fizjologiczny próchnicy występuje specyficznie w warunkach niedostatku tlenowego w podłożu rośliny (Gumiński 1950).

W tym stanie rzeczy wyłoniła się konieczność przeprowadzenia badań oddychania korzeni w kulturze wodnej, przy ograniczeniu zapasu tlenu. Jeśli nasza hipoteza o kompensacji niedostatku tlenowego była słuszna, należałoby oczekiwać, że pod wpływem próchnicy współczynnik oddechu zostanie powiększony, przy czym intensywność oddychania nie powinna ulec pomniejszeniu. W wypadku otrzymania wyników pozytywnych w sprawie naszej hipotezy, rolę fizjologiczną próchnicy w wegetacji roślin można by uznać za definitywnie wyjaśnioną.

METODYKA

Doświadczenia z oddychaniem korzeni wykonano w aparatach, opisanych przez Lundegårdha (1935). Aparat taki przedstawia naczynia połączone i posiada wygląd, podany na rysunku.

Część A ma pojemność 500 ml, część B ok. 50 ml, obie części połączone są kapilarą C. Szyjka naczynia A jest uszczelniana korkiem zaopatrzonym w otwory, w których umieszcza się rośliny. Otwory te, jak również cały korek, zalewa się na czas doświadczenia masłem kakaowym. Oba naczynia połączone napełnia się roztworem, w którym mają oddychać ko-

zenie. Przez czas trwania doświadczenia kurek 1 pozostaje otwarty, kurek 2 natomiast zamknięty. Płyn wypełnia naczynie A całkowicie; w miarę pobierania wody przez rośliny, umieszczone w A, obniża się poziom płynu w B. Ponieważ oba naczynia połączone są przy pomocy kapilary, dyfuzję gazów przez swobodną powierzchnię płynu w B można zaniedbać.

W opisanym powyżej aparacie Lundegårdha umieszczano rośliny na przeciąg 24 godzin. Po skończonym doświadczeniu zamykano kurek 1, na odgałęzienie kapilary D zakładano rurkę gumową i po otwarciu kurka 2 napełniano 300 ml gąsiorek (ze szlifowanym korkiem) płynem z naczynia A. Rurkę gumową wprowadzano na dno gąsiorka, a po napełnieniu natychmiast zamykano szlifowanym korkiem, dbając o to, aby nie dostała się do wewnątrz bańka powietrza.

W tak uzyskanym materiale przeprowadzano oznaczenie ilości tlenu metodą Winklera, z uwzględnieniem modyfikacji wprowadzonej przez hydrobiologów dla wód zawierających większe ilości związków redukujących.

Po napełnieniu gąsiorka dla oznaczenia ilości tlenu wprowadzano dolny koniec pipety do rurki gumowej, tkwiącej na odgałęzieniu kapilary D i pobierano 50 ml płynu z naczynia A. Płyn ten wprowadzano do uprzednio przygotowanej erlenmajerki, zawierającej 25 ml wody barytowej o stężeniu ok. n/60. Erlenmajerkę zamykano szczelnie korkiem gumowym i po 24 godzinach miareczkowano kwasem solnym n/50. W poprzednio przeprowadzonych pomiarach przygotowawczych ustalono, że oznaczenie ilości dwutlenku węgla w tych warunkach może być przeprowadzone je-

dnoznacznie nie wcześniej, niż po upływie doby od czasu zmieszania płynów.

Próchnicę używaną do doświadczeń otrzymywano z kompostu w następujący sposób. Kompost wymywano z części mineralnych 1% HCl i ekstrahowano 2% NaOH. Brunatny roztwór koloidowy strącano kwasem solnym, żel odsączano i ponownie rozpuszczano w 2% NaOH. Po powtórnym wytrąceniu kwasem solnym żel odsączano, przemywano kilkakrotnie wodą i rozpuszczano w niewielkiej ilości ługu sodowego. Tak otrzymany ciemno-brunatny roztwór gotowano przez godzinę w autoklawie pod ciśnieniem 1,5 atm. i w temperaturze 110°C. Gotowy roztwór humianu sodowego stosowano w ilości 50 mg suchej masy na 1 litr wody wodociągowej.

Doświadczenia przeprowadzano na pszenicy, kukurydzy i pomidorach. Roślinki kiełkowano w piasku, następnie przenoszono je do płynnej pożywki mineralnej, według Hampe i Trouffaut, takiej samej, jak w poprzednio ogłoszonych doświadczeniach (Gumiński, 1950). Po mniej więcej dwóch tygodniach wybierano równej wielkości rośliny i używano ich do pomiarów oddychania w naczyniach Lundegårdha.

Porównawcze oznaczenia oddychania przeprowadzano stosując następujące kombinacje:

- 1) kultury z roślinami w wodzie wodociągowej
- 2) kultury z roślinami w wodzie wodociągowej z dodatkiem humianu sodowego
- 3) naczynia z wodą wodociągową bez roślin
- 4) naczynia z wodą wodociągową z dodatkiem humianu sodowego bez roślin.

Aparaty Lundegårdha w kombinacjach kontrolnych (3 i 4) bez roślin napełniano i uszczelniano w sposób identyczny jak w kombinacjach z roślinami. W naczyniach bez roślin również następowały zmiany w ilościach tlenu i dwutlenku węgla przez okres 24 godzin. W naczyniach z samą wodą zmiany te były bardzo niewielkie (pod warunkiem, że używana była świeża woda wodociągowa), natomiast w wodzie z dodatkiem humianu sodowego stwierdzano znaczny ubytek zarówno dwutlenku węgla, jak też i tlenu. Oznaczenia ilości tlenu i dwutlenku węgla dokonywano równocześnie we wszystkich kombinacjach. Ilość zużytego tlenu lub wydzielonego przez rośliny dwutlenku węgla oznaczano jako różnicę pomiędzy ilością tych gazów, znalezionej w danym aparacie z roślinami, i średnią z powtórzeń odpowiedniej kombinacji bez roślin. We wszystkich kombinacjach stosowano trzy równoległe powtórzenia.

WYNIKI

Przeprowadzono 2 doświadczenia z pszenicą, 2 z kukurydzą, 1 z pomidorami. Wyniki podają tabele 1, 2, 3, 4, 5 i 6.

Obliczeń dokonywano według wzoru statystycznego ¹:

$$t_v = \frac{(\bar{x} - \bar{y}) - (\bar{z} - \bar{k})}{\sqrt{\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{1}{n_3} + \frac{1}{n_4}\right) \cdot \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2 + \sum(y_i - \bar{y})^2 + \sum(z_i - \bar{z})^2 + \sum(k_i - \bar{k})^2}{n_1 + n_2 + n_3 + n_4 - 4}}}$$

gdzie: t_v — współczynnik „t” Studenta

$v = n_1 + n_2 + n_3 + n_4 - 4$ = ilość stopni swobody

n — ilość powtórzeń w danej kombinacji

x — wynik dla aparatów z wodą wodociągową z próchnicą

y — wynik dla aparatów z wodą wodociągową z próchnicą i roślinami

z — wynik dla aparatów z czystą wodą wodociągową

k — wynik dla aparatów z czystą wodą wodociągową i roślinami.

Różnice są istotne, jeżeli współczynnik względem przedziału ufności jest większy lub równy jedności.

Tabela 1

Pszenica, po 14 roślin w aparacie

Froment, 14 plantes dans l'appareil

	Wydzielony CO ₂ CO ₂ dégagé mol/1 10 ⁻⁶		Zużyty O ₂ O ₂ consommé mol/1 10 ⁻⁶		CO ₂ O ₂	
	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus
średnie moyennes	401	272	254	276	1,66	0,98
Współczynnik względem prze- działu ufności Coefficient, en rapport d'intervalle de confiance	1,17		0,56			

¹ Profesorowi drowi Hugonowi Steinhausowi oraz profesorowi drowi Julianowi Perkalowi składamy podziękowanie za rozpatrzenie możliwości dokonania obliczeń statystycznych w naszej pracy i za wskazanie właściwego wzoru statystycznego.

Tabela 2

Pszenica, po 16 roślin w aparacie
Froment, 16 plantes dans l'appareil

	Wydzielony CO ₂ CO ₂ dégagé mol/l 10 ⁻⁶		Zużyty O ₂ O ₂ consumé mol/l 10 ⁻⁶		CO ₂ O ₂	
	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus
średnie moyennes	446	410	343	447	1,30	1,92
Współczynnik względem prze- działu ufności Coefficient en rapport d'intervalle de confiance	0,20		0,86			

Tabela 3

Kukurydza, po 4 małe rośliny w aparacie
Maïs, 4 petites plantes dans l'appareil

	Wydzielony CO ₂ CO ₂ dégagé mol/l 10 ⁻⁶		Zużyty O ₂ O ₂ consumé mol/l 10 ⁻⁶		CO ₂ O ₂	
	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus
średnie moyennes	704	794	329	513	2,14	1,54
Współczynnik względem prze- działu ufności Coefficient en rapport d'intervalle de confiance	0,50		1,45			

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Jak widać z załączonych tabel, średnie zużycia tlenu są we wszystkich doświadczeniach niższe dla korzeni oddychających w wodzie z dodatkiem humianu, niż dla korzeni w wodzie czystej; przy tym zużycie tlenu w wodzie czystej jest w trzech doświadczeniach zbliżone. Jeśli porów-

Tabela 4

Kukurydza, po 2 duże rośliny w aparacie

Maïs, 2 grandes plantes dans l'appareil

	Wydzielony CO ₂ CO ₂ dégagé mol/1 10 ⁻⁶		Zużyty O ₂ O ₂ consumé mol/1 10 ⁻⁶		CO ₂ O ₂	
	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus
średnie moyennes	743	497	373	576	1,99	0,66
Współczynnik względem prze- działu ufności Coefficient en rapport d'intervalle de confiance	2,00		1,55			

Tabela 5

Pomidory, po 2 rośliny w aparacie

Tomates, 2 plantes dans l'appareil

	Wydzielony CO ₂ CO ₂ dégagé mol/1 10 ⁻⁶		Zużyty O ₂ O ₂ consumé mol/1 10 ⁻⁶		CO ₂ O ₂	
	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus	z próchnicą avec l'humus	bez próchnicy sans l'humus
średnie moyennes	257	160	390	541	0,65	0,29
Współczynnik względem prze- działu ufności Coefficient en rapport d'intervalle de confiance	0,47		1,58			

nać ilości tlenu, pozostałego w aparatach po ukończeniu doświadczeń, można rzecz wytłumaczyć następująco: rośliny wyczerpały w przybliżeniu cały zapas tlenu w aparatach, ponieważ zaś próchnica pochłonęła część tego zapasu, więc zużycie tlenu przez rośliny w roztworze humianu musiało być mniejsze.

Tabela 6

Warunki tlenowe na końcu poszczególnych doświadczeń
Conditions d'oxygène à la fin des experiments

	Niezużyty O ² O ² restant mol/l 10 ⁻⁶					
	z próchnicą avec l'humus			bez próchnicy sans l'humus		
	aparāt l'appareil			aparāt l'appareil		
	1	2	3	1	2	3
Pszenica, 14 roślin Froment, 14 plantes	204	207	217	281	299	329
Pszenica, 16 roślin Froment, 16 plantes	19	19	5	143	192	20
Kukurydza, 4 rośliny Maïs, 4 plantes	0	19	0	151	41	66
Kukurydza, 2 rośliny Maïs, 2 plantes	33	0	33	170	0	8
Pomidory, 2 rośliny Tomates, 2 plantes	69	0	8	121	49	170

Ilość wydzielonego dwutlenku węgla jest natomiast większa w wodzie z dodatkiem humianu w 4 doświadczeniach, a mniejsza (i to w granicach błędu) w jednym doświadczeniu. Ilość wydzielonego dwutlenku węgla w stosunku do ilości pobranego tlenu (współczynnik oddechowy) jest we wszystkich doświadczeniach większa w roztworze humianu.

Nie wszystkie różnice w pobieraniu tlenu i wydzielaniu dwutlenku węgla przez korzenie, oddychające w roztworze humianu i wodzie wodociągowej czystej, są statystycznie udowodnione. Ponieważ jednak we wszystkich pięciu doświadczeniach zużycie tlenu w roztworze humianu było mniejsze (według średnich) i ponieważ w trzech wypadkach na pięć zostało to statystycznie udowodnione, możemy twierdzić, że w obecności humianu sodowego rośliny zużyły mniej tlenu niż w wodzie wodociągowej czystej. Wobec zgodności w liczbach średnich, określających współczynnik oddechowy we wszystkich doświadczeniach i wobec statystycznego udowodnienia istotności różnic zarówno dla licznika, jak i dla mianownika w jednym doświadczeniu (tabela 4), możemy również twierdzić, że humian powodował wzrost współczynnika oddechowego.

Natomiast co do intensywności oddychania, mierzonej ilością wydzielonego dwutlenku węgla, twierdzenie musi być ostrożniejsze: pod wpływem humianu sodowego korzenie badanych roślin wykazywały wyraźną tendencję do wzmożenia intensywności oddychania. Tym samym stwierdzamy, że humian nie powodował w opisanych doświadczeniach spadku intensywności oddychania.

Na podstawie tak przeprowadzonej analizy możemy sformułować odpowiedź na zasadnicze pytanie, postawione we wstępie niniejszej pracy: W przeprowadzonych doświadczeniach wzrósł pod wpływem humianu sodowego współczynnik oddechowy korzeni, przy czym intensywność oddychania nie uległa pomniejszeniu. Z tego wypływa nieodparty wniosek, że humian sodowy częściowo zastępował tlen atmosferyczny w oddychaniu korzeni badanych roślin.

Na marginesie naszej pracy interesujące jest porównanie współczynników oddechowych roślin kontrolnych w poszczególnych doświadczeniach. Współczynniki te dla pszenicy wynosiły 0,98 i 0,92, a więc prawie równały się idealnej jedności, charakterystycznej dla biologicznego utleniania cukrowców. Współczynniki oddychania korzeni kukurydzy wynosiły 1,54 i 0,86. Dosyć wysoką liczbę 1,54 tłumaczyć można dwójako: albo rozpoczął się proces oddychania śródrobinowego z wytwarzaniem alkoholu, albo też utlenieniu uległy poprzednio wytworzone kwasy organiczne. W doświadczeniu z pomidorami znaleziono współczynnik oddechowy bardzo niski, bo 0,29. Tak niski współczynnik spowodowany mógł być jedynie niepełnym utlenianiem biologicznym i wtórną karboksylacją, w wyniku czego w korzeniach pomidorów niewątpliwie gromadziły się kwasy organiczne. Wynik ten nie był przypadkowy, gdyż w innym doświadczeniu, przeprowadzanym na korzeniach pomidorów, otrzymaliśmy również niski współczynnik oddechowy.

Zestawienie wyników niniejszej pracy z wynikami poprzednich doświadczeń vegetacyjnych (Gumiński 1950 oraz Gumiński i Gumińska 1953) zachęca do przeprowadzenia dalszych doświadczeń nad oddychaniem korzeni. Jako hipotezę roboczą w zaplanowanych badaniach przyjmujemy, że korzenie roślin, wegetując w innym środowisku aniżeli pędy, mogą też mieć inny metabolizm oddechowy, dostosowany do warunków życia. Częściowe potwierdzenie tej hipotezy znajdujemy w badaniach Lundegårdha i jego naśladowców oraz w dotychczasowych badaniach własnych. Obecnie zamierzamy sprawdzić, czy korzenie roślin mogą w procesie oddychania wykorzystywać utlenione związki nieorganiczne podłoża, podobnie jak to czynią mikroorganizmy.

WNIOSKI

1. Potwierdza się hipotezę o kompensacji niedostatku tlenu przez humian sodowy w procesie oddychania korzeni.

2. Należy przeprowadzić badania nad możliwością kompensacji niedostatku tlenu przy oddychaniu korzeni przez inne związki, znajdujące się w naturalnym podłożu roślin.

Zakład Fizjologii Roślin WSR
we Wrocławiu

(Wpłynęło dn. 20.IV.1955 r.)

R É S U M É

On a déterminé comparativement l'intensité de la respiration et le quotient respiratoire des racines dans l'eau d'aqueduc pure et dans l'eau avec l'addition de l'humate de soude, en employant dans ces experiments l'apparature décrite par Lundegårdh (1935). On a fixé la consommation de l'oxygène avec la méthode de Winkler et le dégagement de CO_2 à l'aide de $\text{Ba}(\text{OH})_2$. En considération que la solution de l'humate lie chimiquement l'oxygène, ainsi que le gaz carbonique — la quantité de l'oxygène absorbée, relativement du gaz carbonique dégagée par les racines, était déterminée, comme la différence entre la quantité de ceux gazes trouvée dans l'appareil avec des plantes et entre la moyenne reçue d'experiments des contrôls simultanés, sans plantes.

Les recherches étaient exécutées sur le froment, le maïs et les tomates.

On a constaté, que, si la réserve d'oxygène est restreinte, l'humate de soude augmente le quotient respiratoire, sans diminuer l'intensité de la respiration.

En conséquence on a obtenu l'affirmation de l'hypothèse exprimée dans l'ouvrage publiée au par avant (Gumiński i Gumińska, 1953), qui explique l'influence stimulative de l'humus sur la végétation des plantes en cas de l'insuffisance d'oxygène dans le milieu, de cette manière, que l'humus compense le manque d'oxygène dans la fonction respiratoire des racines.

L I T E R A T U R A

- Christiewa L. A., 1953, Poczwowiedienije 10: 46—59.
Gumiński S., 1950, Acta Soc. Bot. Pol. 20: 589—620.
Gumiński S. i Gumińska Z., 1953, Acta Soc. Bot. Pol. 22: 771—785.
Lundegårdh H. u. Burström H., 1935, Biochem. Ztschr. 277: 223—249.