



# Przewodnik do ćwiczeń z fizjologii roślin

pod redakcją

Marii Skłodowskiej

i Elżbiety Kuźniak-Gębarowskiej



WYDAWNICTWO  
UNIwersytetu  
ŁÓDZKIEGO

**Przewodnik**  
**do ćwiczeń**  
**z fizjologii roślin**

#### Autorzy rozdziałów

dr Katarzyna Bergier – rozdz. 2, 7, 11

dr hab. Ewa Gajewska – rozdz. 4, 9, 10

prof. dr hab. Elżbieta Kuźniak-Gębarowska – rozdz. 3, 12

dr hab. Urszula Małolepsza – rozdz. 19

dr Marcin Naliwajski – rozdz. 21

dr Justyna Nawrocka – rozdz. 5

dr hab. Jacek Patykowski – rozdz. 16

prof. dr hab. Maria Skłodowska – rozdz. 14

dr Marzena Wielanek – rozdz. 8, 13, 15, 17, 18, 20

dr Anna Wyrwicka – rozdz. 1, 6, 16

#### Rysunki

mgr inż. Urszula Świercz

# Przewodnik do ćwiczeń z fizjologii roślin

pod redakcją

Marii Skłodowskiej

i Elżbiety Kuźniak-Gębarowskiej



WYDAWNICTWO  
UNIWERSYTETU  
ŁÓDZKIEGO

Łódź 2020

Elżbieta Kuźniak-Gębarowska, Maria Skłodowska – Uniwersytet Łódzki  
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin  
90-237 Łódź, ul. Banacha 12/16

RECENZENT

*Andrzej Kornaś*

REDAKTOR INICJUJĄCY

*Beata Koźniewska*

REDAKCJA

*Barbara Sikora*

SKŁAD I ŁAMANIE

*Munda – Maciej Torz*

KOREKTA TECHNICZNA

*Anna Sońta*

PROJEKT OKŁADKI

*krzysztof de mianiuk*

Zdjęcie wykorzystane na okładce autorstwa Joanny Chojak-Koźniewskiej

© Copyright by Authors, Łódź 2020

© Copyright for this edition by Uniwersytet Łódzki, Łódź 2020

Wydane przez Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego

Wydanie I. W.09850.20.0.S

Ark. wyd. 9,0; ark. druk. 15,875

ISBN 978-83-8220-012-6

e-ISBN 978-83-8220-013-3

Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego

90-131 Łódź, ul. Lindleya 8

[www.wydawnictwo.uni.lodz.pl](http://www.wydawnictwo.uni.lodz.pl)

e-mail: [ksiegarnia@uni.lodz.pl](mailto:ksiegarnia@uni.lodz.pl)

tel. 42 665 58 63

# SPIS TREŚCI

**Przedmowa** / 7

## **Rozdział I**

SKŁAD CHEMICZNY ROŚLIN. WYKRYWANIE SKŁADNIKÓW  
MINERALNYCH W ROŚLINACH / 9

## **Rozdział II**

MINERALNE ODŻYWIANIE ROŚLIN / 23

## **Rozdział III**

KOMÓRKA ROŚLINNA JAKO UKŁAD OSMOTYCZNY / 31

## **Rozdział IV**

PRZEPUSZCZALNOŚĆ BŁON PLAZMATYCZNYCH / 41

## **Rozdział V**

DALEKI TRANSPORT WODY, TRANSPIRACJA / 53

## **Rozdział VI**

BARWNIKI ASYMLACYJNE I ICH WŁAŚCIWOŚCI / 69

## **Rozdział VII**

REAKCJA HILLA / 81

## **Rozdział VIII**

ODDYCHANIE / 87

## **Rozdział IX**

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA REGULATORÓW WZROSTU ROŚLIN / 97

## **Rozdział X**

METABOLIZM AZOTOWY ROŚLIN. OZNACZANIE AKTYWNOŚCI  
REDUKTAZY AZOTANOWEJ / 115

## **Rozdział XI**

WŁAŚCIWOŚCI GLEB / 123

**Rozdział XII**

KIEŁKOWANIE NASION / 133

**Rozdział XIII**

ALLELOPATIA. WPŁYW METABOLITÓW WTÓRNYCH NA KIEŁKOWANIE NASION I WZROST SIEWEK / 143

**Rozdział XIV**

AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW AMYLOLITYCZNYCH W PRZECHOWYWANYCH ORGANACH SPICHRZOWYCH / 157

**Rozdział XV**

TEST TOLERANCJI KOMÓREK ROŚLINNYCH NA ABIOTYCZNE CZYNNIKI STRESOWE / 167

**Rozdział XVI**

REAKCJE ROŚLIN NA STRES ABIOTYCZNY / 175

**Rozdział XVII**

CAŁKOWITA ZDOLNOŚĆ ANTYOKSYDACYJNA PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH POCHODZENIA ROŚLINNEGO / 183

**Rozdział XVIII**

ZAWARTOŚĆ KWASU ASKORBINOWEGO (WITAMINY C) W WARZYWACH I OWOCACH / 193

**Rozdział XIX**

INDUKCJA TKANKI KALUSOWEJ I PĘDÓW PRZYBYSZOWYCH W KULTURZE *IN VITRO* FIOŁKA AFRYKAŃSKIEGO / 203

**Rozdział XX**

METABOLITY WTÓRNE O ZNACZENIU PROZDROWOTNYM. ANTRAZWIAZKI LIŚCI I KULTUR *IN VITRO* ALOESU / 209

**Rozdział XXI**

ANALIZA JAKOŚCIOWA I ILOŚCIOWA WYBRANYCH METABOLITÓW WTÓRNYCH W ROŚLINNYCH SUROWCACH LECZNICZYCH / 221

ZAŁĄCZNIKI DO ĆWICZEŃ / 233

PYTANIA POMOCNICZE DO POWTÓRKI MATERIAŁU / 247

## Przedmowa

*Przewodnik do ćwiczeń z fizjologii roślin* adresowany jest głównie do studentów studiów licencjackich na kierunkach biologia, ochrona środowiska i biotechnologia. Może być również pomocny dla studentów innych kierunków przyrodniczych i rolniczych. Przy opracowaniu ćwiczeń autorzy wykorzystali swoje wieloletnie doświadczenie dydaktyczne w zakresie fizjologii i biochemii roślin, zdobyte w czasie prowadzenia zajęć praktycznych w Katedrze Fizjologii i Biochemii Roślin na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Ćwiczenia zostały tak opracowane, aby zapoznać studentów z podstawowymi procesami związanymi z funkcjonowaniem roślin, ułatwić ich zrozumienie i wzajemne relacje, co ma istotne znaczenie w kontekście praktycznego wykorzystania roślin w życiu człowieka. Zamiarem autorów było też wykazanie, że fizjologia roślin, będąca jednym z podstawowych działów biologii, posługuje się nowoczesnymi metodami z zakresu biochemii, biofizyki i biotechnologii. Każdy rozdział został poprzedzony krótkim wstępem teoretycznym, przygotowującym do zajęć laboratoryjnych dotyczących omawianych zagadnień, który ma ułatwić zrozumienie samego procesu lub reakcji i ich uwarunkowań.

*Przewodnik* zawiera zestaw ćwiczeń, które można wykonać bez zaawansowanej aparatury, przy jednoczesnym znacznym zaangażowaniu studentów w prowadzone doświadczenia. Autorzy wyrażają nadzieję, że niniejsze opracowanie będzie przydatne dla wszystkich zainteresowanych biologią eksperymentalną roślin.



ROZDZIAŁ I. **SKŁAD CHEMICZNY ROŚLIN**  
**WYKRYWANIE SKŁADNIKÓW**  
**MINERALNYCH W ROŚLINACH**

## CZĘŚĆ TEORETYCZNA

Tkanki roślinne składają się z wody, związków organicznych oraz związków nieorganicznych. Zawartość wody w roślinach stanowi średnio 70–95% ogólnej ich masy i może różnić się znacznie w zależności od gatunku, wieku rośliny, organu, pory roku oraz aktualnie panujących warunków środowiska. Największą zawartością wody charakteryzują się tkanki, w których intensywność procesów metabolicznych jest najwyższa. Średnia zawartość wody wyrażona w procentach całkowitej masy rośliny jest najwyższa w płatkach kwiatów (90–95%), w liściach wynosi około 60–95%, a najmniej zasobne w wodę są nasiona i ziarniaki zbóż (5–15%). Naturalnie uwodniona, zważona bezpośrednio po pobraniu masa rośliny lub jej części to **świeża masa roślinna (ś. m.)**.

Z uwagi na dynamikę zmian zawartości wody w tkankach roślinnych, aby przeprowadzić analizę składu chemicznego pobranego materiału, pozyskuje się suchą masę roślinną. **Sucha masa roślinna (s. m.)** jest masą tkanki roślinnej otrzymaną w procesie ogrzewania próbki w temperaturze 105°C przez dwie godziny, a następnie w 80°C – aż do uzyskania stałej masy. Podczas ogrzewania lotne związki zawarte w tkance uchodzą do atmosfery, a substancje wrażliwe na działanie wysokiej temperatury zostają rozłożone do związków prostych. Sucha masa roślinna jest pozostałością zawierającą związki organiczne i nieorganiczne oraz wodę związaną chemicznie. Prawie połowę suchej masy roślinnej stanowi węgiel (ok. 45%), podobnie tlen (ok. 42%), około 6,5% – wodór, a 1,5% – azot. W celu dalszej analizy składu mineralnego tkanek suchą masę poddaje się procesowi spalenia prowadzonemu w temperaturze 600°C. Spaleniu ulega materiał organiczny, a powstające w tym procesie  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$  i  $\text{H}_2\text{S}$  ulatniają się do atmosfery. Pozostała część związków nielotnych otrzymana po prażeniu to **popiół roślinny**, który zawiera

pierwiastki pobrane z podłoża, z wyjątkiem azotu oraz częściowo siarki, i stanowi 0,2–20% suchej masy. W skład popiołu wchodzi głównie tlenki takich pierwiastków, jak: K, Mg, Na, Fe, P, S, Si, a także sole: chlorki, siarczki i fosforany.

Kryteria podziału pierwiastków występujących w organizmach roślinnych:

1. **Kryterium jakościowe** – dzieli pierwiastki na podstawie niezbędności pobieranych ze środowiska jonów oraz ich sposób działania:
  - a) **pierwiastki niezbędne** – są konieczne do przejścia całego cyklu rozwojowego rośliny, od kiełkowania do wydania żywotnych nasion, i nie mogą być zastąpione innymi pierwiastkami (N, K, Ca, Mg, P, S oraz Cl, Fe, Cu, B, Zn, Mn, Mo, Ni);
  - b) **pierwiastki korzystne (pożądane)** – wpływają pozytywnie na wzrost i rozwój roślin, ale nie są niezbędne w przebiegu ontogenezy (Na, Si, Co, Al, V);
  - c) **pierwiastki zbędne (balastowe)** – jeśli występują w podłożu, mogą być pobierane przez roślinę, jednak nie pełnią żadnych funkcji fizjologicznych lub mogą wykazywać działanie toksyczne (np. Pb, Cd, Hg).
2. **Kryterium ilościowe** – dotyczy ilości, w jakiej są pobierane pierwiastki z podłoża oraz ich zawartości w suchej masie roślin:
  - a) **makroelementy** – występują w roślinach na ogół w ilości powyżej 0,1% (1000 ppm) suchej masy. Są to: N, K, Ca, Mg, P, S;
  - b) **mikroelementy** – występują w roślinach w ilości około 1000-krotnie mniejszej niż makroelementy (0,01–0,00001%; 100–0,1 ppm). Są to: Cl, Fe, Cu, B, Zn, Mn, Mo, Ni.
3. **Kryterium właściwości chemicznych oraz fizjologiczno-biochemicznych:**
  - a) pierwiastki organogenne: C, H, O; roślina pobiera je w postaci  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{O}_2$ ;
  - b) niemetale: N, S, P, B, Cl;
  - c) metale alkaliczne i ziem alkalicznych: K, Ca, Mg, Na oraz półmetal Si;
  - d) metale ciężkie: Fe, Cu, Mn, Mo, Zn, Ni, Co, Al, V.

## CZĘŚĆ PRAKTYCZNA

### Doświadczenie I

#### Mikroanaliza popiołu roślinnego

---

#### Cel ćwiczenia

Wykrycie obecności chloru, fosforu, magnezu, potasu, siarki, wapnia i żelaza w popiele roślinnym.

---

#### Zasada metody

Składniki mineralne popiołu roślinnego wykrywa się za pomocą charakterystycznych reakcji chemicznych, w wyniku których poszczególne jony tworzą łatwo krystalizujące lub barwne związki.

#### Materiał

popiół roślinny, np. z liści tytoniu lub z drewna

#### Odczynniki

10% HCl, 10% HNO<sub>3</sub>, 1% AgNO<sub>3</sub>, 1% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>, 1% HNO<sub>3</sub>, 10–25% NH<sub>3(aq)</sub>, 1% Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 70% HClO<sub>4</sub>, 96% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 5% BaCl<sub>2</sub>, nasycony roztwór (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, 1% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 2% heksacyjanożelazian (II) potasu – K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]

#### Sprzęt laboratoryjny

waga analityczna, mikroskop świetlny, 2 probówki chemiczne, 7 szkiełek podstawowych, szkiełka nakrywkowe, płytka pH-metryczna, bagietki szklane

#### I.A. PRZYGOTOWANIE DWÓCH RODZAJÓW WYCIĄGÓW Z POPIOŁU

Na wadze odważyć dwie porcje po 50 mg popiołu roślinnego otrzymanego z liści tytoniu lub z drewna. Każdą z porcji przenieść do osobnych, podpisanych probówek i zalać 2 cm<sup>3</sup>:

- a) 10% HCl,
- b) 10% HNO<sub>3</sub>.

Zawartość probówek ostrożnie wymieszać i pozostawić na 5 minut, aby osad opadł na dno. Do wykrywania składników mineralnych w popiele używać płynu znad osadu, bez uprzedniego sączenia przez bibułę. W celu wykrycia składników mineralnych wszystkie reakcje chemiczne przeprowadzać na szkiełkach podstawowych, bez używania szkiełek nakrywkowych.

Przeprowadzając poniższe doświadczenia, zawsze należy: (1) podpisać szkiełko podstawowe, (2) nałożyć za pomocą bagietki szklanej kroplę analizowanego wyciągu, (3) w odległości około 1 cm od kropli wyciągu nałożyć kroplę odczynnika, (4) za pomocą bagietki szklanej połączyć obie krople wąskim kanalikiem. Po upływie 2–5 minut (w zależności od rodzaju reakcji) w analizowanych preparatach obserwować pod mikroskopem (powiększenie obiektu 10× lub 20×) charakterystyczne kryształy, które zazwyczaj najszybciej będą widoczne na brzegach kropli. Po dokonaniu obserwacji:

- 1) zapisać zasadę oznaczenia wraz z równaniem zachodzącej reakcji;
- 2) narysować kryształy wykrytych związków chemicznych, uwzględniając ich kształt, wielkość oraz barwę;
- 3) zapisać wnioski dotyczące obecności pierwiastków w analizowanym popiele.

---

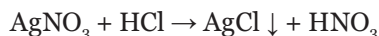
**UWAGA:** Przy wykonywaniu reakcji na szkiełkach podstawowych zachować szczególną ostrożność, gdyż niektóre odczynniki są silnie żrące lub mają intensywną woń.

---

## I.B. WYKRYWANIE PIERWIASTKÓW W POPIELE ROŚLINNYM

### 1. Wykrywanie chloru

Obok kropli wyciągu z popiołu w 10% HNO<sub>3</sub> umieścić kroplę 1% AgNO<sub>3</sub>. W miejscu połączenia płynów powstaje biały osad AgCl.



### 2. Wykrywanie fosforu

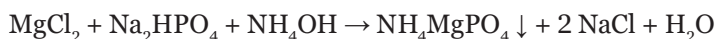
Obok kropli wyciągu z popiołu w 10% HNO<sub>3</sub> umieścić kroplę 1% molibdenianu (VI) amonu w 1% HNO<sub>3</sub>. W miejscu

połączenia kropli wytrącają się żółte kryształy fosfomolibdenianu amonu.



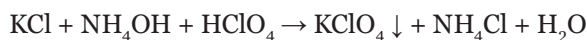
### 3. Wykrywanie magnezu

Kroplę wyciągu z popiołu w 10% HCl zobojętnić amoniakiem (1–2 krople), dodać kroplę 1% roztworu  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Wytrącają się drobne kryształy fosforanu amonowo-magnezowego.



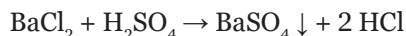
### 4. Wykrywanie potasu

Kroplę wyciągu z popiołu w 10% HCl zobojętnić amoniakiem (1–2 krople), dodać 2–3 krople kwasu chlorowego (VII). Wytrąca się biały osad nierozpuszczalny w 96%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ .



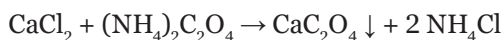
### 5. Wykrywanie siarki

Do wyciągu z popiołu w 10% HCl dodać kilka kropli 5%  $\text{BaCl}_2$ . Wytrąca się biały, nierozpuszczalny osad  $\text{BaSO}_4$ .

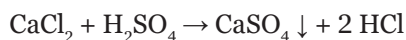


### 6. Wykrywanie wapnia

**a)** Wyciąg z popiołu w 10% HCl zobojętnić amoniakiem (1–2 krople), a następnie dodać kroplę nasyconego roztworu  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ . Wytrąca się biały osad szczawianu wapnia.

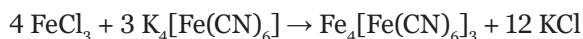


**b)** Do wyciągu z popiołu w 10% HCl dodać kroplę 1%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Powstaną kryształy siarczanu wapnia.



## 7. Wykrywanie żelaza

Do wyciągu z popiołu w 10% HCl dodać kroplę 2% heksacyjanożelazianu (II) potasu. Powstaje niebieskie zabarwienie – osad heksacyjanożelazianu (II) żelaza (III), czyli błękit pruski. Reakcję wykonać na płytce pH-metrycznej.



## Doświadczenie II

**Wykrywanie składników mineralnych w tkankach roślin (reakcje histochemiczne)**

### Cel ćwiczenia

Wykrycie obecności magnezu, wapnia, szczawianu wapnia oraz rozpuszczalnych szczawianów ( $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ ), azotanów (V) ( $\text{NO}_3^-$ ), jonów amonowych ( $\text{NH}_4^+$ ) i żelaza w tkankach roślin.

### Zasada metody

Reakcje histochemiczne służą do wykrywania niewielkich ilości poszczególnych pierwiastków bezpośrednio w tkankach roślinnych. Są to reakcje mikrochemiczne, podczas których powstają barwne lub krystaliczne substancje. Wyniki reakcji histochemicznych obserwuje się najczęściej pod mikroskopem.

### Materiał

siewki pomidora, ogonki liściowe pelargonii, łuska cebuli, łodyga begonii, korzeń marchwi, liście pszenicy, łodyga skrzypu

### Odczynniki

1% wodorofosforan sodowo-amonowy ( $\text{NaNH}_4\text{HPO}_4$ ), 25%  $\text{NH}_3(\text{aq})$ , 2%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 5%  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$  w 5%  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , 8%  $\text{NaHCO}_3$ , 96%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , nasycony roztwór NaOH w 90–96%  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ , 0,5% difenylamina [ $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{NH}$ ] w 48%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 48%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 20% NaOH, odczynnik Nesslera [ $\text{K}_2(\text{HgI}_4) + \text{KOH}$ ],

gorący  $C_2H_5OH$ , 2%  $K_4[Fe(CN)_6]$ , 2%  $HCl$ , 10% tiocyjanian potasu ( $KSCN$ ), 10%  $HCl$

### Sprzęt laboratoryjny

zlewka 800 cm<sup>3</sup>, zlewka 50 cm<sup>3</sup>, kolba stożkowa 250 cm<sup>3</sup>, szkiełko zegarkowe o średnicy 7 cm, żyłotka, 2 skalpele, 2 pęsety, 10 szkiełek podstawowych, szkiełka nakrywkowe, mikroskop świetlny, 2 szalki Petriego, krystalizator na 50 cm<sup>3</sup>, bibuła filtracyjna, parownicza, waga analityczna, probówki chemiczne, bagietki szklane

#### 1. Wykrywanie magnezu

W komórkach fotosyntetyzujących roślin magnez występuje głównie jako składnik chlorofilu. Spotyka się go również w formie mineralnej, szczególnie w nasionach i tkankach merystematycznych. Obecność magnezu mineralnego można łatwo wykazać przez wytrącenie go w formie kryształów fosforanu magnezowo-amonowego.

Na szkiełko podstawowe za pomocą bagietki szklanej nanieść kroplę 1%  $NaNH_4HPO_4$ , zanurzyć w niej wykonany żyłką poprzeczny skrawek hipokotylu uzyskany z siewki pomidora. Całość umieścić w atmosferze nasyczonej parami amoniaku, np. pod szklanym kloszem (zlewka 800 cm<sup>3</sup>), pod którym uprzednio wstawiono szalkę Petriego lub krystalizator ze stężonym amoniakiem. Po 5–15 minutach wyjąć spod klosza szkiełko podstawowe z preparatem. Preparat przykryć szkiełkiem nakrywkowym i obejrzeć pod mikroskopem (powiększenie obiektu 10× lub 20×). W preparacie są widoczne kryształy fosforanu amonowo-magnezowego, które należy narysować w zeszycie.

#### 2. Wykrywanie wapnia

W tkankach roślinnych wapń wchodzi w skład blaszki środkowej (protopektyny), występuje również w formie rozpuszczalnej w soku komórkowym. Przeważająca ilość wapnia, szczególnie w starszych organach, znajduje się w komórkach w formie kryształów: szczawianów, węglanów lub winianów wapnia.