

SREDNJA ŠOLA JOSIPA JURČIČA

**USPEVANJE RASTLIN V ALGINATNEM
HIDROGELNEM SUBSTRATU**

RAZISKOVALNA NALOGA

PODROČJE: BIOLOGIJA

Julija GENORIO

MENTORICA: Miša RUS, mag. prof. biol.

MENTOR: doc. dr. Tilen KOPAČ

Ivančna Gorica, 2024

Zahvala

Za pomoč, sodelovanje in nasvete pri nastajanju raziskovalnega dela se najlepše zahvaljujem mentorici Miši Rus, mag. prof. biol., ki mi je odprla na milijone vrat v svet biologije in strokovnemu mentorju doc. dr. Tilnu Kopaču, najjačemu kokosu in kolesarju ter preostalim zaposlenim laboratorija na Fakulteti za kemijo in kemijsko tehnologijo.

Hvala prijateljici Alji za delanje družbe pri gojenju rastlin in čudovitemu zlatemu teletu, ki je vedno brez premisleka verjel vame.

Posebno zahvalo pa namenjam svojemu očetu, ki je vsa ta leta hranili mojo radovednost in mi vse od začetka predstavljali znanost kot čudežno ter z mano in Leonoro preživel neskončne popoldneve v prirodoslovni muzeju, mami, ki mi je dala svojo mitohondrijsko DNA in pogum celega sveta ter sestricama, ki sta poskrbeli, da je bila ob pisanju moje raziskovalne naloge vedno pestra zvočna spremljava.

Hvala vam, družinica, »don't forget to follow the fliš«.

Uspevanje rastlin v alginatnem hidrogelnem substratu

Povzetek:

Človeška populacija in nuja po hrani rasteta, vendar je rodovitnih kmetijskih površin vedno manj. Rešitev je substrat, narejen iz materialov, ki so cenovno in prostorsko dostopni, biokompatibilni in omogočajo dolgotrajno oskrbo rastline z vodo in hranilnimi snovmi. Hidrogeli so naravni ali umetni zamreženi polimeri, sestavljeni iz tridimenzionalnih mrež hidrofilnih polimernih verig, ki imajo izjemno sposobnost absorbiranja in zadrževanja znatne količine vode. Cilj raziskovalne naloge je bil sintetizirati funkcionalen in prsti podoben substrat, ki bi lahko v prihodnosti nadomestil mineralno izropane in sušne prsti ter bil ob morebitni naselitvi naše vrste na drugih planetih substrat za gojenje rastlin. V raziskovalni nalogi smo zastavili 4 hipoteze, s katerimi smo preverjali ustrezost hidrogela kot substrata za rast rastlin, njegovo sposobnost zadrževanja vode, vpliv prisotnosti dodanih makroelementov in sproščanje le teh. Sintetizirali smo alginatni hidrogel z omenjenimi lastnostmi in v njem uspešno 10 dni gojili rastlino vrste *Cichorium endivia*, splošno znane kot endivija.

Ključne besede: ICP OES, hidrogel, alginati, mikro- in makroelementi, endivija, zadrževanje vode

Growing plants in an alginate hydrogel substrate

Abstract:

The human population is rapidly increasing and with it also the need for producing more food, since there is less and less fertile agricultural land. The solution is a substrate made of materials that are affordable and accessible, biocompatible and enable long-term water and nutrient supply to the plant. Hydrogels are natural or artificial cross-linked polymers made of three-dimensional networks of hydrophilic polymer chains that have an exceptional ability to absorb and retain a significant amount of water. The goal of the research assignment was to synthesize a functional and soil-like natural hydrogel that could replace mineral-depleted and arid soils in the future, and with the possible settlement of our species on other planets, it could potentially be a substrate for plant cultivation. In the research paper, we set out 4 hypotheses with which we tested the suitability of hydrogel as a substrate for plant growth, its ability to retain water, the influence of added macroelements and their release. We synthesized an alginate hydrogel with these properties and successfully cultivated a plant of the species *Cichorium endivia*, commonly known as endive, for 10 days.

Keywords: ICP OES, hidrogel, alginate, micro- in macro elements, endive, water retention

Kazalo vsebine

1. Uvod	1
1.1. Naravni hidrogeli	2
1.1.1. Alginatni hidrogel.....	2
1.2. Zamreževanje alginata s Ca^{+2} ioni.....	4
1.3. Sproščanje dodanih snovi	5
1.4. Princip analize in delovanje ICP OES inštrumenta	5
1.4.1. Težave in omejitve instrumenta ICP OES	6
1.5. Makroelementi in hranila prisotna v prsti.....	8
1.5.1. Makrohranila	8
1.5.2. Mikrohranila	9
1.6. Privzem in transport hranilnih snovi	10
1.7. Endivija (<i>Cichorium endivia</i>)	11
1.8. Zgradba semena in kalitev endivije	12
1.9. Pregled do sedaj opravljenih poskusov in raziskav gojenja rastlin v hidrogelnem substratu.....	13
2. Namen, cilji in hipoteze raziskovalne naloge	13
3. Eksperimentalni del.....	15
3.1 Razklop in analiza prsti za gojenje sobnih rastlin	15
3.1.1. Kislinski razklop prsti.....	15
3.1.2. ICP OES analiza	17
3.2. Sinteza alginatnega hidrogelnega substrata	17
3.2.1. Izbira in preverjanje uporabljenih spojin.....	17
3.2.2. Določanje razmerja med zamreževalcem in biopolimerom ter želena trdnost	18
3.2.3. Sproščanje makroelementov in vzorčenje za ICP OES analizo	20
3.3. Opazovanje, proučevanje in primerjanje rasti vrste <i>Cichorium endivia</i> v sintetiziranem substratu	21

3.3.1.	Priprava in označba vzorcev	21
3.3.2.	Opazovanje rasti	23
4.	Rezultati.....	24
4.1.	Rezultati sušenja in žarjenja	24
4.2.	Rezultati ICP OES analize.....	24
4.3.	Sproščanje makroelementov iz hidrogela.....	25
4.4.	Primerjava sestave prsti in sestave hidrogela	28
4.5.	Rast endivije	29
1.	DAN	29
2.	DAN	30
3.	DAN	31
4.	DAN	32
5.	DAN	33
6.	DAN	34
7.	DAN	35
8.	DAN	36
9.	DAN	37
10.	DAN.....	38
11.	Razprava	39
12.	Sklep.....	45
13.	Zaključek.....	46
15.	Literatura	47

Kazalo slik

<i>Slika 1, delo Dafna Knani, Struktura natrijevega alginata. Barvna legenda: rdeča, O; bela, H; siva, C; vijolična, Na</i>	2
<i>Slika 2, avtorska slika, Zamreževanje alginatnega hidrogela s kalcijevi ioni</i>	4
<i>Slika 3, Slika etikete uporabljenih semen endivije</i>	11
<i>Slika 4, VZR 1 in VZR 2</i>	21
<i>Slika 5, VZR 7 in VZR 8</i>	22
<i>Slika 6, VZR 12 in VZR 13</i>	22
<i>Slika 7, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13</i> ..	29
<i>Slika 8, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13</i> ..	30
<i>Slika 9, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13</i> ..	30
<i>Slika 10, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – kaleča semena, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13</i>	31
<i>Slika 11, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – rastoče rastline v sredini VZR 7 in VZR 8 – kaleča semena, spodaj VZR 12 in VZR 13 – kaleča semena</i>	32
<i>Slika 12, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8 – kaleča semena, spodaj VZR 12 in VZR 13 – kaleča semena</i>	33
<i>Slika 13, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – rast, v sredini VZR 7 in VZR 8 – rast kalečih rastlin, spodaj VZR 12 in VZR 13 – rast kalečih rastlin</i>	34
<i>Slika 14, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – venenje rastlin, v sredini VZR 7 in VZR 8 – rast kalečih rastlin, spodaj VZR 12 in VZR 13 – rast kalečih rastlin</i>	35
<i>Slika 15, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – odmiranje rastlin, v sredini VZR 7 in VZR 8 – razpoke v substratu, spodaj VZR 12 in VZR 13 – razpoke v substratu</i>	36
<i>Slika 16, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – odmiranje rastlin, v sredini VZR 7 in VZR 8 – nove razpoke v substratu, spodaj VZR 12 in VZR 13 – nove razpoke v substratu</i>	37
<i>Slika 17, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – posušena zemlja, posušene rastline, v sredini VZR 7 in VZR 8 – posušen hidrogel, spodaj VZR 12 in VZR 13 – posušen hidrogel</i>	38
<i>Slika 18, 3D model za oblikovanje poroznega hidrogela</i>	41
<i>Slika 19, Poskusni porozni hidrogel z žepki zraka</i>	42
<i>Slika 20, Gojenje pothosa v hidrogelu z makroelementi</i>	43

Kazalo tabel

<i>Tabela 1: Tabela 1, Najpogostejsi elementi in njihova zastopanost v prsti za gojenje sobnih rastlin pridobljeni z ICP OES analizo.</i>	24
---	----

Kazalo grafov

<i>Graf 1: Tortni diagram sestave prsti za gojenje sobnih rastlin</i>	24
<i>Graf 2, Sproščanje magnezijevih ionov v odvisnosti od časa</i>	25
<i>Graf 3, Sproščanje fosforjevih ionov v odvisnosti od časa</i>	26
<i>Graf 4, Sproščanje kalijevih ionov v odvisnosti od časa</i>	27
<i>Graf 5, Sproščanje kalcijevih ionov v odvisnosti od časa</i>	27
<i>Graf 9, Tortni prikaz sestave hidrogela</i>	28
<i>Graf 8, Tortni prikaz sestave prsti</i>	28

Seznam uporabljenih kratic

ICP OES optično emisijska spektrometrija z induktivno sklopljeno plazmo (ang.
Inductively coupled plasma optical emission spectrometry)

1. Uvod

Hidrogeli so naravni ali umetni zamreženi polimeri, sestavljeni iz tridimenzionalnih mrež hidrofilnih polimernih verig, ki imajo izjemno sposobnost absorbiranja in zadrževanja znatne količine vode ali vodnih raztopin, ne da bi pri tem izgubili svojo strukturno celovitost. Za te materiale je značilna zmožnost ujemanja molekul vode v medmrežne prostore. Lastnost je posledica prisotnosti hidrofilnih skupin, kot so -OH in -COOH, vzdolž omenjenih polimernih verig. Značilnosti hidrogela (zadrževanje tekočin, biokompatibilnost) omogočajo uporabo teh za različno biomedicinsko in biotehnološko uporabo (tkivni inžiniring, sistemi za dostavljanje zdravil, obloge za celjenje ran, kontaktne leče, higienski pripomočki ...).^[1] ^[2]

Zamreženi polimeri so znani kot hidrogeli, ne glede na to ali so sintetični, naravni ali kombinirani derivati. Sintetizirati jih je mogoče iz različnih umetnih monomerov, kot so akrilati, akrilamidi, vinilni monomeri ali iz naravnih polimerov, kot so alginat, celuloza in hialuronska kislina, ki so postali aktualni v zadnjih desetletjih.^[1] ^[2]

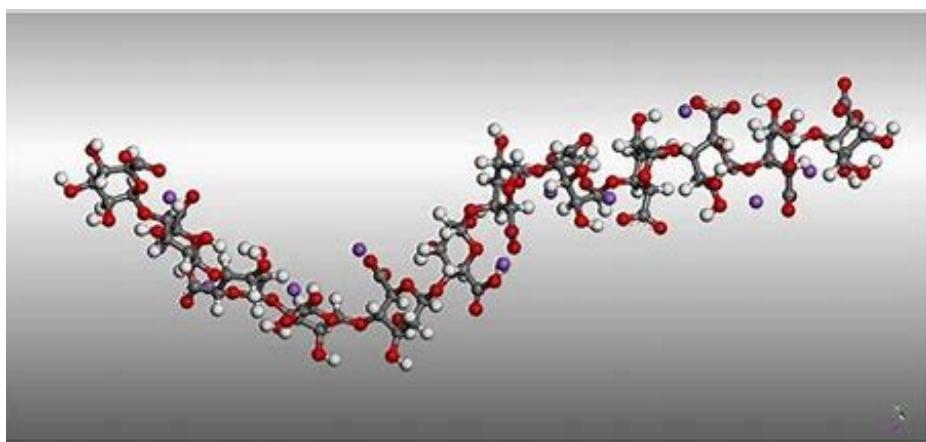
Njihova sposobnost odzivanja na okoliške dražljaje, kot so spremembe pH, temperature, elektromagnetnega polja, svetlobe in dodajanje specifičnih ionov, je privedla do razvoja hidrogelov z nadzorovano zmogljivostjo sproščanja ionov ali spojin.^[1] ^[2]

1.1. Naravni hidrogeli

Naravni hidrogeli so narejeni iz naravnih polimerov, te pa lahko razvrstimo v različne kategorije, ki jih narekujejo njihove kemijske strukture: polisaharidi (hitozan, celuloza, alginat itd.), poliamidi, polifenoli, organski in anorganski poliestri ter polianhidridi. Zaradi svojega naravnega izvora naravni hidrogeli, izdelani iz polisaharidov in beljakovin, posnemajo zunajcelično okolje, zato so tudi tako biokompatibilni. [1]

1.1.1. Alginatni hidrogel

Alginatni hidrogel je vrsta naravnega hidrokaza. Alginati predstavljajo skupino naravnih koloidnih polisaharidov, znanih po svoji topnosti v vodi, biorazgradljivosti, netoksičnosti in biokompatibilnosti. Izvirajo predvsem iz različnih vrst rjavih morskih alg, lahko pa so njihov vir tudi nekateri bakterijski rodovi, kot sta *Pseudomonas* in *Azotobacter*. Sestavljeni so iz linearnih struktur. [3],[4]



Slika 1, delo Dafna Knani, Struktura natrijevega alginata. Barvna legenda: rdeča, O; bela, H; siva, C; vijolična, Na.

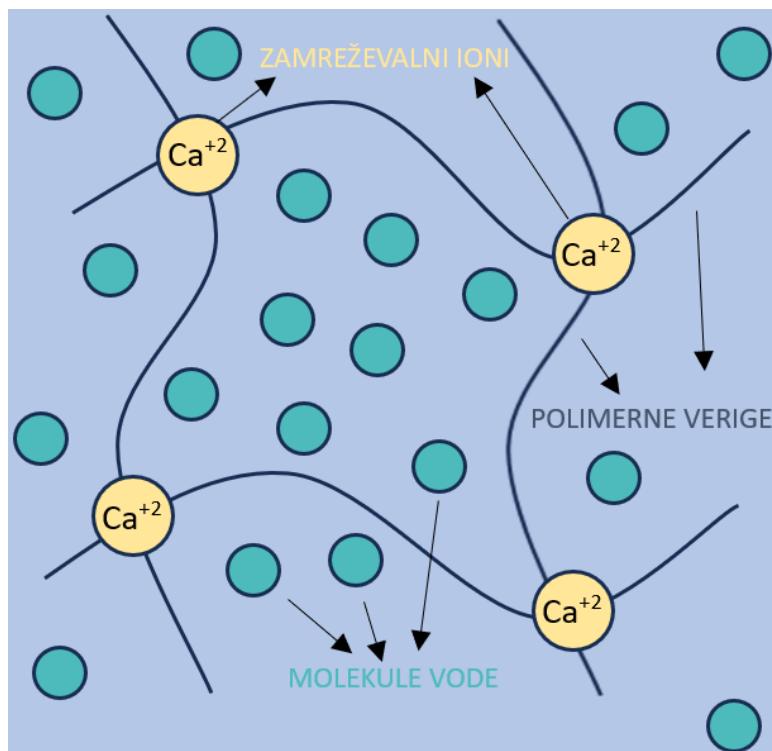
Alginatni hidrogeli imajo lastnost enostavnega zamreževanja. Najpogosteje se uporablja ionsko zamreževanje alginatnih polimerov preko divalentnih kationov (Mg^{+2} , Ca^{+2} , Ba^{+2} ,

Fe^{+2} , Cu^{+2}) in/ali trivalentnih kationov (Fe^{+3} , Al^{+3}). Pri ionskem zamreževanju se ustvari ionska interakcija med dvema karboksilnima skupinama na površini alginata preko di-oz. trivalentnega iona. [3]

1.2. Zamreževanje alginata s Ca^{+2} ioni

Ko se natrijev alginat raztopi v vodi, zaradi svoje hidrofilne narave tvori viskozno raztopino. Po dodatku raztopine kationa-kalcijev klorid (CaCl_2), kalcijevi ioni medsebojno delujejo s karboksilnimi skupinami, ki so prisotne vzdolž alginatnih polimernih verig. Ta ionska interakcija vodi do nastanka navzkrižnih povezav med sosednjimi alginatnimi verigami. Ob vzpostavitvi več navzkrižnih povezav, se začne oblikovati tridimenzionalna mrežna struktura, ki omogoča difuzijo vode v hidrogelno mrežo. Ta proces imenujemo nabrekanje oz. gelacija (ang. *swelling*), kar povzroči nastanek gela z viskoelastičnimi lastnostmi.^[5]

Postopek zamreževanja je mogoče nadzorovati s prilagajanjem različnih parametrov, kot so koncentracija natrijevega alginata, koncentracija raztopine kalcijevega klorida in čas gelacije.^[5]



Slika 2, avtorska slika, Zamreževanje alginatnega hidrogela s kalcijevi ioni

1.3. Sproščanje dodanih snovi

Sposobnost absorbiranja in zadrževanja vode znotraj polimernih mrež, ki sestavljajo hidrogel, zagotavlja primerno okolje za enkapsulacijo in sproščanje različnih molekul.

Molekule se skupaj z vodo ujamejo v matriks gela oz. v prostore, ki jih naredijo polimerne mreže. Hidrogel deluje kot nekakšen rezervoar za ujete molekule in jih zadrži v svoji strukturi, dokler se sčasoma z različnimi mehanizmi nadzorovano ne sprostijo. Sproščanje snovi iz hidrogela je mogoče nadzorovati z različnimi mehanizmi, vključno z difuzijo, razgradnjo, pH-jem, temperaturo, encimi idr.

Difuzijsko nadzorovano sproščanje vključuje pasivno difuzijo učinkovin skozi polimerno matrico, ki jo lahko opišemo s Fickovim zakonom oz. enačbo, ki pravi, da je »hitrost difuzije neposredno sorazmerna s površinsko in koncentracijsko razliko ter obratno sorazmerna z debelino membrane«.^[5]

1.4. Princip analize in delovanje ICP OES inštrumenta

ICP OES, ang. *Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, slov. *optično emisijska spektrometrija z induktivno sklopljeno plazmo*, je sodobna analitična tehnika, ki jo v znanosti uporabljam za natančno kvantitativno določanje specifičnih elementov v nekem vzorcu. Princip ICP OES deluje nanašajoč se na dejstvo, da lahko atomi in ioni sprejmejo energijo (vir te energije je v aparaturi za ICP OES toplota, ki jo oddaja plazma argona (približno 10.000 K)), ki jo nato uporabijo za vzbujanje ter posledično premikanje elektronov med orbitalami. Ko elektron vzbujenega atoma preide iz višje energetske ravni na nižjo, postopoma ali z neprekinjenim preskokom, torej nazaj v osnovno stanje, odda svetlobo določene valovne dolžine, ki je značilna za preiskovani atom ali ion.^[6]

Razmerje med intenziteto oddane svetlobe in koncentracijo analiziranega elementa je predstavljeno v Beer-Lambertovem zakonu (1). Zakon navaja, da je absorbanca (A) vzorca neposredno sorazmerna s koncentracijo snovi, ki svetlobo oddaja in potjo, ki jo svetloba prepotuje skozi vzorec. ^[6]

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (1)$$

- A predstavlja absorbanco snovi
- ε predstavlja molsko absorpcijo (konstanta, specifična za snov in valovno dolžino svetlobe),
- c predstavlja koncentracijo snovi (elementa)
- l pa predstavlja pot, ki jo prepotuje svetloba

Delovanje ICP OES analize razčlenimo na tri korake:

1. Vzburjenje atomov/ionov s pomočjo plazme argona.
2. Merjenje intenzitete svetlobe, ki so jo oddali vzburjeni elektroni ob pomiku nazaj v nižje in nazadnje osnovno stanje.
3. Računanje koncentracije izbranih elementov glede na kalibracijski graf, ki se ravna po Beer-Lambertovi enačbi (enačba 1).^[6]

1.4.1. Težave in omejitve instrumenta ICP OES

Kot že omenjeno, je ICP-OES tehnika, ki se uporablja predvsem za analizo kovin in njihovih spojin v vzorcih. Čeprav je instrument za ICP OES zelo občutljiv in učinkovit za številne elemente, ni primeren za neposredno merjenje dušika. ^[6]

Merjenje dušika v vzorcu je omejeno iz dveh razlogov – njegove šibke emisijske črte ter interference zaradi dušikovega množičnega obstoja v molekularni obliki (N_2) v zraku. [6]

Zaradi naštetih dejavnikov se za določanje vsebnosti dušika v vzorcih običajno uporablajo druge metode elementarne analize, kot so analiza zgorevanja, kemiluminiscenca in fotospektrometrija. [6]

1.5. Makroelementi in hranila prisotna v prsti

Prst vsebuje različne hranilne molekule, ki so kljub majhnim količinam ključne za uspešen razvoj in rast rastlin. Mineralna hranila so za rastljino nujno potrebna, saj se številni izmed elementov neposredno vgrajujejo v organske molekule v celici. Tudi če mineralna hranila v celici niso vezana prav v organske molekule, so lahko v prosti ionski obliki in imajo neposredno vlogo pri ohranjanju notranjega okolja. [7]

V glavnem jih razvrstimo v dve glavni kategoriji: makrohranila/makroelemente in mikrohranila/mikroelemente. [7]

1.5.1. Makrohranila

Makrohranila rastline potrebujejo, kot nakazuje njihovo ime, v relativno večjih količinah. Med najpomembnejše spadajo:

Dušik (N): Dušik je ključna sestavina vseh beljakovin, nukleinskih kislin, klorofila in drugih pomembnih molekul v rastlinah. Za rastljino je torej pomemben v kontekstu rasti, sinteze novega tkiva in splošnega delovanja organizma. [7]

Fosfor (P): Fosfor je pomembna komponenta v procesu prenosa energije v rastlinski celici, vključno s fotosintezo in celičnim dihanjem. Pomemben je pri razvoju korenin, plodov in cveta. [7]

Kalij (K): Kalij je pomemben za pravilno delovanje encimov in klorofila in uravnavanje sprejemanja in transporta vode in dušika znotraj rastlin. Prispeva k splošnemu zdravju rastlin in odpornosti na bolezni. [7]

Kalcij (Ca): Kalcij pomaga ohranjati struktorno celovitost celičnih sten in membran v rastlinah. Prav tako uravnava delitev celic, aktivnost encimov in vnos hranil. [7]

Magnezij (Mg): Magnezij je sestavina klorofila, pigmenta, odgovornega za fotosintezo. Bistvenega pomena je za sintezo ogljikovih hidratov in aktivacijo encimov, vključenih v različne presnovne procese.^[7]

Žveplo (S): Žveplo je sestavina nekaterih aminokislin in vitaminov v rastlinah. Element je vključen tudi v tvorbo klorofila in sintezo nekaterih sekundarnih metabolitov.^[7]

1.5.2. Mikrohranila

Mikrohranila rastline potrebujejo v manjših količinah, med drugimi železo, mangan, cink, baker, nikelj, bor, klor, molibden in kobalt.^[7]

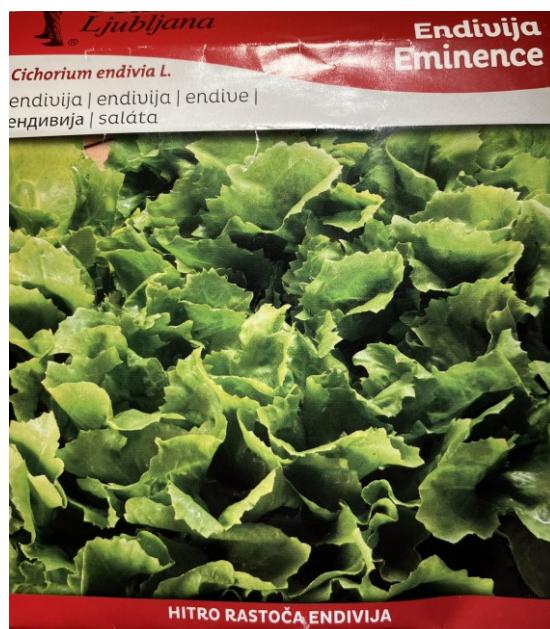
1.6. Privzem in transport hranilnih snovi

Transport vode in mineralnih snovi se začne v koreninah. Voda z raztopljenimi makro- in mikroelementi vstopi na končnih delih koreninskega sistema. Nekatere celice krovnega tkiva korenine se izoblikujejo v koreninske laske, ki povečajo površino za absorpcijo. [7]

Voda v rastlino vstopa s pasivnim, mineralne snovi pa večinoma z aktivnim transportom. Minerali se tako s pomočjo posebnih transportnih beljakovin v membrani gibljejo proti kontracijskemu gradientu z območja nizke koncentracije (podlagi) na območje visoke koncentracije (znotraj koreninskih celic). Po vstopu v celice koreninske skorje rastline se voda in mineralna hranila premaknejo v sredino korenine, kjer je žila. Molekule vstopijo v notranjost prevodne žile, natančneje v ksilem. Sklenjen vodni stolpec in primerna tlačna sila ali transpiracijski tok zagotavljajo, da se voda ter makro- in mikrohranila prenesejo do ustreznih delov rastline. [7]

1.7. Endivija (*Cichorium endivia*)

Vrsta *Cichorium endivia*, splošno znana kot endivija, je listnata zelena zelenjava, ki spada med solatnice, dvokaličnice. Znana je po kodrastih in krhkikh listih, ki tvorijo ohlapno obliko glave ali rozete. Listi se lahko razlikujejo po barvi od svetlo zelene do temno zelene, odvisno od sorte in pogojev gojenja. Nekatere sorte imajo širše, bolj gladke liste, druge pa ožje, tesneje zvite. Glede na liste razlikujemo dva tipa endivije; navadno endivijo (*Cichorium endivia* var. *latifolia*) in kodrolistno endivijo (*Cichorium endivia* var. *crispa*). Prvi tip je v Sloveniji bolj razširjen in raste v skledasto rozeto z bledimi listi v sredini. V tujini je bolj razširjena kodrolistna. Rastlina v ustreznih pogojih hitro vzkali, najbolje uspeva pri zmernih temperaturah in v z mineralnimi snovmi bogati zemlji. [8],[9]



Slika 3, Slika etikete uporabljenih semen endivije

1.8. Zgradba semena in kalitev endivije

Dvokaličnice so rastline z dvema kličnima listoma. Seme vsebuje kalček z razvitimi apikalnimi meristemi in zasnovami rastlinskih organov. V endospermu ali kličnih listih ima zložne snovi, ki se pretvorijo v energetsko bogate molekule, ki kalčku nato omogočajo rast in razvoj.

Kalitev se začne, ko je seme izpostavljen vodi in jo vsrka. Celice nabreknejo, semenska lupina poči. Encimi začnejo razgrajevati založne snovi na enostavnejše (npr. škrob se razgradi v saharozo). V kalčkovih mitohondrijih se prične celično dihanje, ki je vir energije, potrebne za rast in razvoj sporofita. Iz semena najprej požene majhna korenina, s katero se rastlina pritrdi v tla, preko katere začne sprejemati vodo in anorganske snovi. Nato začne rasti še poganjek. Na kalitev vplivajo različni dejavniki, najpomembnejša sta prisotnost vode in kisika ter ustrezna temperatura. [10]

1.9. Pregled do sedaj opravljenih poskusov in raziskav gojenja rastlin v hidrogelnem substratu

Hidrogele, ki jih uporabljam v kmetijstvu, imenujemo tudi agrogeli. Številne hidrogele, zlasti polisaharide, lahko uporabimo kot rastni substrat za rastline. Ti hidrogeli lahko simulirajo trdnost tal in dajo rastlini oporo, kar ji omogoča rast v višino. [11]

Raziskave so pokazale da dodajanje hidrogelov v mešanico prsti zagotavlja odpornost pridelkov na sušo, da lahko ti delujejo kot sredstva za oblaganje semen in izboljšajo stopnjo uspešnosti presajanja. Pri peletiranju semen tobaka s hidrogelom se je izkazalo, da so ta uspešnejša pri premagovanju sušnega stresa od tistih, ki niso. [12] [13]

Raziskali so tudi, da uporaba hidrogela pozitivno učinkuje na rast in razvoj kmetijskega pridelka. Zviševanje količine dodanega hidrogela v prst je imelo pozitiven vpliv ne samo na rast in razvoj vrste paprike, temveč tudi na končni pridelek. [14]

Hidrogel uporabljam tudi pri pogozdovanju; pri raziskavi so ob ponovnem pogozdovanju borove sadike bolje uspevale, če so prst obogatili s hidrogeli. [15]

2. Namen, cilji in hipoteze raziskovalne naloge

V zadnjem stoletju se človeštvo spopada z neizogibljivimi posledicami globalnega segrevanja, kot so suše in erozija, ki zemljo pustijo izsušeno in mineralno izropano.

Človeška populacija in nuja po hrani rasteta, vendar je rodovitnih kmetijskih površin vedno manj. Voda je, kot ključna komponenta uspešne rasti rastlin, dragocena, a ne vedno na voljo v izobilju, zato vsaka kapljica šteje. Rešitev je substrat, narejen iz materialov, ki so cenovno dostopni, biokompatibilni in omogočajo dolgotrajno oskrbo rastline z vodo in hranilnimi snovmi.^[16]

Cilj raziskovalne naloge je bil sintetizirati funkcionalen in prsti podoben naravni hidrogel, ki bi lahko v prihodnosti nadomestil mineralno izropane in sušne prsti ter bil ob morebitni naselitvi naše vrste na drugih planetih substrat za gojenje rastlin.

Hipoteze:

- I. Hidrogel je ustrezen substrat za rast rastlin.
- II. Hidrogel je na otip dlje časa vlažen kot prst, zato rastline v njem uspevajo dlje časa.
- III. Rastline endivije rastjo hitreje in dlje časa v hidrogelu z dodanimi makroelementi v spojinah, kot rastline, ki rastejo v prsti.
- IV. Rastline endivije v hidrogelu z dodanimi makroelemnti uspevajo dlje časa kot rastline v hidrogelu brez dodanih makroelemntov v spojinah.

3. Eksperimentalni del

Eksperimentalni del raziskovalne naloge je potekal v laboratoriju na FFKT Ljubljana in na šoli v treh delih:

1. razklop in analiza prsti za gojenje sobnih rastlin z ICP OES analizo,
2. sinteza alginatnega hidroelnega substrata,
3. opazovanje rasti endivije v prsti hidrogelu.

3.1 Razklop in analiza prsti za gojenje sobnih rastlin

Ena glavnih komponent v našem hidroelnem substratu je prisotnost makroelementov, ki so ključni za rast in razvoj rastline. Da bi lahko čim natančneje imitirali koncentracije in sproščanje teh elementov v zemlji, smo izbrano prst za gojenje sobnih rastlin, Substral – Zemlja za gojenje zelenih rastlin (Rosliny Zielove), analizirali s ICP OES analize.

Priprava vzorcev za aparaturo ICP OES obsega več korakov.

3.1.1. Kislinski razklop prsti

Sušenje in žarjenje vzorca

Pred sušenjem smo 3 vzorce prsti stehtali (vzorec 1 = $0,4979 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$; vzorec 2 = $0,5353 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$; vzorec 3 = $0,5204 \text{ g} \pm 0,0001 \text{ g}$), da smo lahko kasneje izračunali izgubo vode. Postopek sušenja vzorcev do konstantne mase smo izvedli z namenom odstranitve in določitve deleža H_2O . Postopek je trajal 3 ure pri stalni temperaturi $105^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Po sušenju smo vzorce ponovno stehtali in določili delež izgubljene vode.

Nadaljevali smo s postopkom žarjenja, ki je nadalje razgradil prst in odstranil vse, kar je bilo v njej organskega. Vzorce smo v keramičnih posodicah žarili 1 uro pri $950\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Za sušenje in žarjenje smo uporabili žarilno peč Carbolite.

Po žarjenju smo vzorce stehtali in določili delež LOI – žarne izgube (ang. *loss on ignition*).

Kislinski razklop

Kislinski razklop je obsegal dodajanje kisline zlatotopke v teflonsko ogrodje (valj) s presušenimi in žarjenimi vzorci, segrevanje z mikrovalovi in filtriranje do utekočinjenega vzorca.

V teflonsko ogrodje, specializirano za segrevanje z mikrovalovi in odporno na visok tlak, smo natehtali 500 mg vzorca. V digestoriju smo vzorcu dodali zlatotopko (lat. *Aqua regia*), ki je sestavljena iz 35 % HCl in 67 % HNO₃ v molskem razmerju:
HCl : HNO₃ = 3 : 1.

Raztopino smo počasi segrevali v mikrovalovni pečici (valovna dolžina = 12 cm) 25 minut, do temperature $175\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ in jo 15 minut ohranjali pri $175\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Vzorce smo nato ohladili, filtrirali čez filtrirni papir, da je ostala le še homogena raztopina vzorca in H₂O. Končni volumen vzorcev je bil 25 ml, dosegli smo ga z dodajanjem ultra čiste vode.

3.1.2. ICP OES analiza

1. Priprava vzorcev za ICP OES

Vse vzorce s prostornino 25 ml smo redčili 1000-krat, 50-krat in 5-krat. Pripravili smo standardizirane vzorce za umeritev instrumenta ICP OES, ki vsebuje zelo majhne koncentracije 33-ih elementov. S tem smo pridobili umeritveno krivuljo, ki je služila za določanje koncentracije posameznih elementov v vzorcu prsti za gojenje sobnih rastlin.

2. Analiza vzorcev z ICP OES

Pripravljene vzorce smo namestili v sistem črpanja ICP OES instrumenta, ki je rezultate posredoval računalniškemu sistemu. Računalnik je nato rezultate predstavil v tabelarni obliku za vsak vzorec posebej, glede na umeritveno krivuljo.

3. Obdelava rezultatov

Pridobljene rezultate z ICP OES-a smo obdelali v uporabne podatke za nadaljnjo rabo. Dobljeni rezultati so bili uporabljeni pri vseh nadalnjih sintezah hidrogelov z vsebnostjo izbranih elementov.

3.2. Sinteza alginatnega hidrogelnega substrata

3.2.1. Izbira in preverjanje uporabljenih spojin

Na podlagi dobljenih rezultatov ICP OES analize smo se odločili, na katere makroelemente bi se osredotočili. Izbrali smo tri, ki so v analizirani prsti po koncentraciji najbolj izstopali: magnezij (Mg), fosfor (P) in kalij (K).

Poiskali smo spojine, v katerih nastopajo ti elementi, in zraven še preostale druge mikro- in makroelemente (žveplo (S), kalcij (Ca), dušik (N)), pomembne za rast rastlin [7]. V hidrogel smo dodali (z različnimi barvami smo označili posamezne elemente v spojinah za lažji pregled):

- ~ MgSO4,
- ~ (NH4)2HPO4,
- ~ KNO3.

Kalcij se nahaja znotraj CaCl2, ki služi kot zamreževalcev biopolimera alginata (C6H7NaO6).

Da bi preverili, kako ob prisotnosti zgoraj naštetih spojin ne pride do motnje pri zamreževanju alginata, smo naredili poskusni hidrogel iz 500 ml deionizirane H2O, alginata (10 g), CaCl2 (10 g), KNO3 (25,3 g), (NH4)2HPO4 (30,0 g) in MgSO4 (30,1 g).

3.2.2. Določanje razmerja med zamreževalcem in biopolimerom ter želena trdnost

Ko smo se prepričali, da so vse izbrane spojine kompatibilne z zamreževalcem in polimerom, smo s poskušanjem (dodajanje-odvzemanje CaCl2 in alginata) določili še idealno razmerje med zamreževalcem, alginatom in vodo, da smo dosegli trdnost hidrogelnega substrata, ki je bila čim bolj podobna prsti. Trdnost hidrogela smo določili kvalitativno glede na vzorčno prst.

Sinteza končne različice hidrogela

A) Hidrogel z makroelementi

Odstotki CaCl_2 in alginata se nanašajo na prostornino vode (100 ml). Odstotki makroelementov se nanašajo na skupno maso alginata in zamreževalca oz. na »suho maso« ($m = 5,25 \text{ g}$).

Za pripravo hidrogela s hranili smo v čašo dodali v sledečem vrstnem redu:

- 0,25 % CaCl_2 ($m = 0,2500 \text{ g}$),
- 0,08 % MgSO_4 ($m = 0,0042 \text{ g}$),
- 0,14 % $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ ($m = 0,0074 \text{ g}$),
- 0,13 % KNO_3 , ($m = 0,0068 \text{ g}$),
- 100 ml H_2O .

Nato smo ob stalnemu mešanju (900 rpm) dodali še 5 % Alginata ($m = 5,0000 \text{ g}$).

B) Hidrogel brez makroelementov

Za pripravo cca. 100 ml hidrogela brez hranil smo v čašo dodali:

- 0,25 % CaCl_2 ($m = 0,2500 \text{ g}$),
- 100 ml H_2O .

Ob stalnemu mešanju (900 rpm) smo dodali še 5% Alginata ($m = 5,0000 \text{ g}$).

Oba hidrogela (z in brez hranil) smo mešali 20 minut na 900 rpm oz. dokler niso izginile vse vidne grudice alginata in je bila zmes povsem gladka.

3.2.3. Sproščanje makroelementov in vzorčenje za ICP OES analizo

V 100 ml ultra čiste H₂O, ki smo jo stalno mešali, smo dali zamrežen hidrogel z makroelementi. Vzorčenje je potekalo v intervalih po 5 minut od časa 0 s do časa 30 minut, v intervalih po t = 10 minut od časa t = 30 minut do časa t = 60 minut in nazadnje še pri času t = 120 min. Dobljene vzorce smo analizirali z ICP OES analizo ter z rezultati narisali graf sproščanja v odvisnosti od časa.

3.3. Opazovanje, proučevanje in primerjanje rasti vrste *Cichorium endivia* v sintetiziranem substratu

Pripravili smo po dva paralelna vzorca prsti in hidrogelnih substratov. V vsako petrijevko smo posejali enako količino semen endivije.

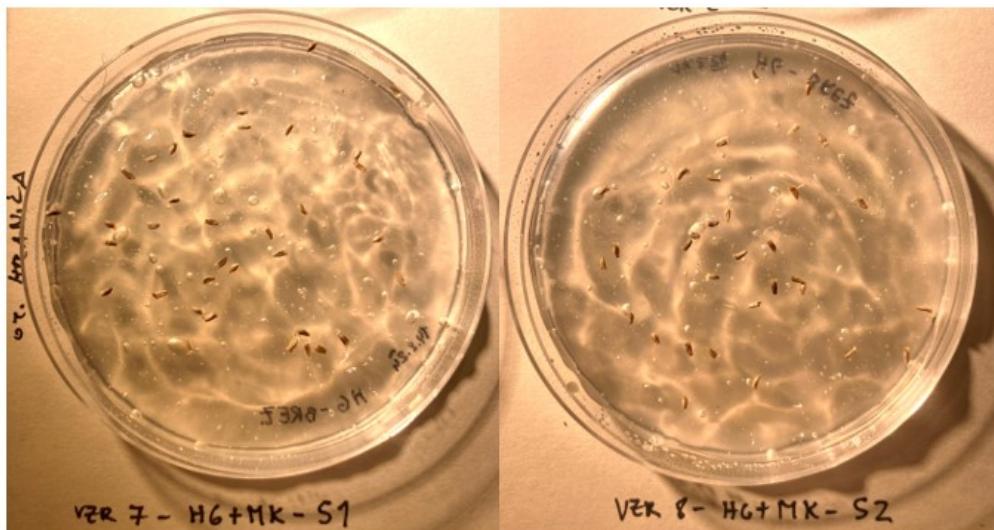
3.3.1. Priprava in označba vzorcev

VZR1-R-S1 in VZR-2-B-S1 – označbi na sliki 4, v nadaljevanju skrajšano, VZR 1 in VZR 2, sta vzporedna vzorca, ki sta vsebovala prst za gojenje sobnih rastlin ter semena endivije. Semena smo posuli čez prst in jih rahlo potisnili vanjo. Prst smo zalili s tolikšno količino vode, kot jo je vseboval hidrogelni substrat (19 ml). Masa izsušene zemlje je ustrezala suhi masi hidrogela.



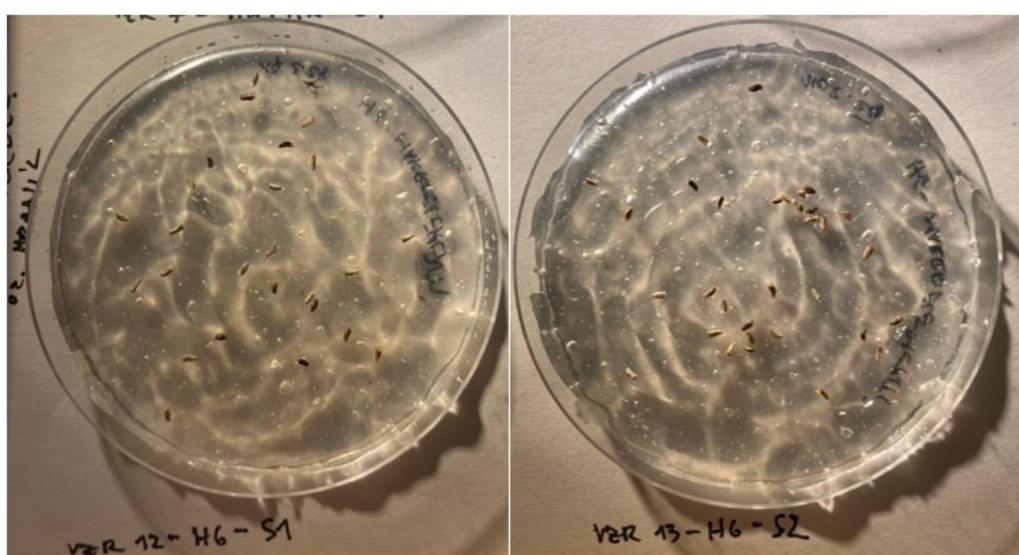
Slika 4, VZR 1 in VZR 2

VZR 7- HG + MK in VZR 8-HG + MK – označba na sliki 5, v nadaljevanju skrajšano – VZR 7 in VZR 8, sta vzporedna vzorca v petrijevkah, ki sta vsebovala hidrogel z makroelementi. Semena endivije smo položili na hidrogel z makroelementi in jih nežno potisnili vanj, tako da so bila delno potopljena. Vsak vzorec je vseboval 20 ml hidrogela.



Slika 5, VZR 7 in VZR 8

VZR-12-HG-S1 in VZR-13-HG-S2- – označba na sliki 6, v nadaljevanju skrajšano- VZR 12 in VZR 13, sta vzporedna vzorca, ki jih sestavlja samo hidrogel. Semena endivije smo položili na substrat in jih nežno potisnili v hidrogel, tako da so bila delno potopljena. Vsak vzorec je vseboval 20 ml hidrogela.



Slika 6, VZR 12 in VZR 13

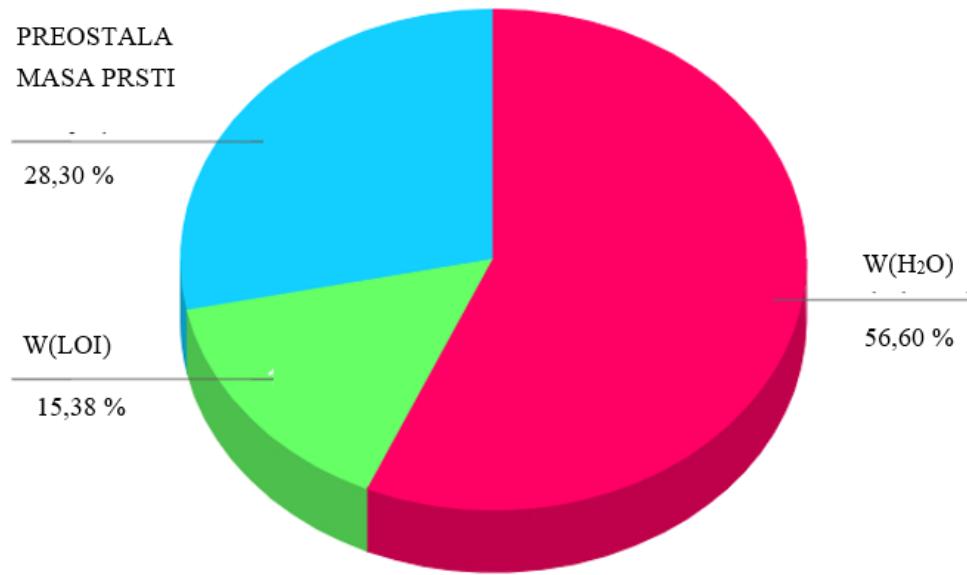
3.3.2. Opazovanje rasti

Opazovanje vzorcev smo opravljali 10 dni, enkrat dnevno (dopoldan med 8.00 in 11.00). Vzorci v tem času niso bili deležni nobenega dodatnega zalivanja. S tem smo preverjali, katera podlaga oz. substrat bo dlje uspešno zadrževal vodo. Vlažnost substratov smo preverjali kvalitativno, na otip. Seme je pričelo kaliti, ko je počila semenska lupina in smo opazili korenino. Petrijevke z vzorci so bile pokrite do vključno 4. dneva, ko so se kalčki zadeli v pokrov petrijevke. Poskus je bil končan, ko so vse kaleče rastline zaradi pomanjkanja vode propadle.

Opazovanje je potekalo pri povprečni temperaturi 20 °C na okenski polici obrnjeni proti vzhodu. Vzorci so bili izpostavljeni naravnemu dnevno-nočnemu ciklu.

4. Rezultati

4.1. Rezultati sušenja in žarjenja



Graf 1: Tortni diagram sestave prsti za gojenje sobnih rastlin

Ko smo vzorce prsti posušili in žarili, je povprečna izguba vode v vzorcih ($w(H_2O)$) znašala 56,60 %, povprečna žarna izguba v vzorcih je znašala 15,38 % (= $w(LOI)$).

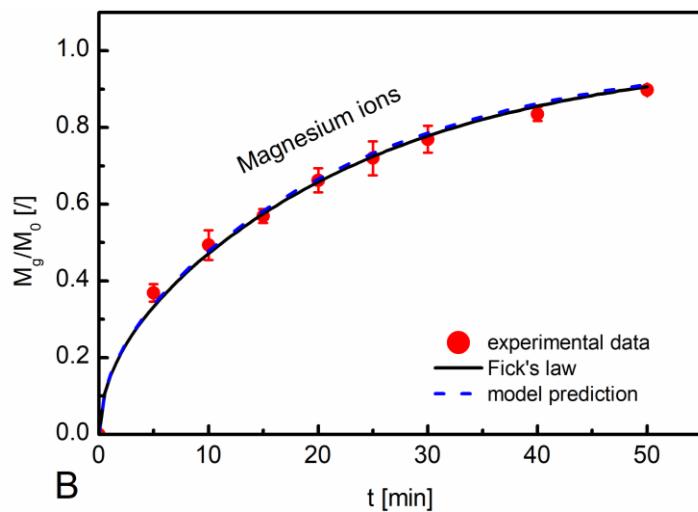
4.2. Rezultati ICP OES analize

Tabela 1: Tabela 2, Najpogostejsi elementi in njihova zastopanost v prsti za gojenje sobnih rastlin pridobljeni z ICP OES analizo.

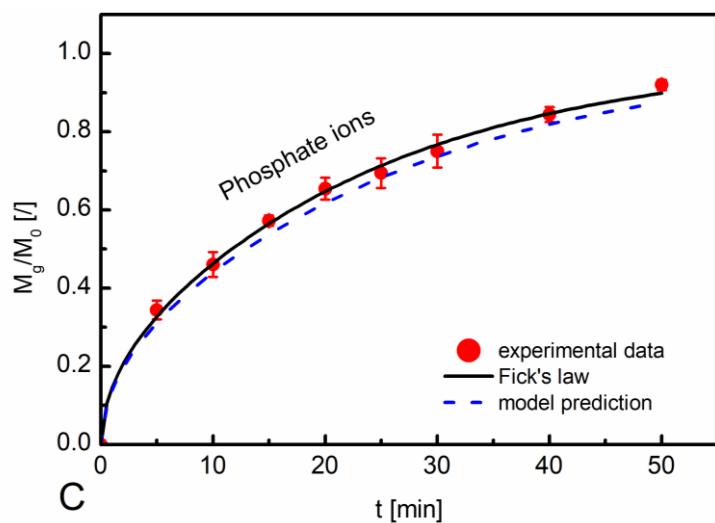
Elementi v prsti za gojenje sobnih rastlin	Mg	Al	P	K	Ca	Fe
[%]	0,0800	0,2400	0,1400	0,1300	0,2700	0,6100

4.3. Sproščanje makroelementov iz hidrogela

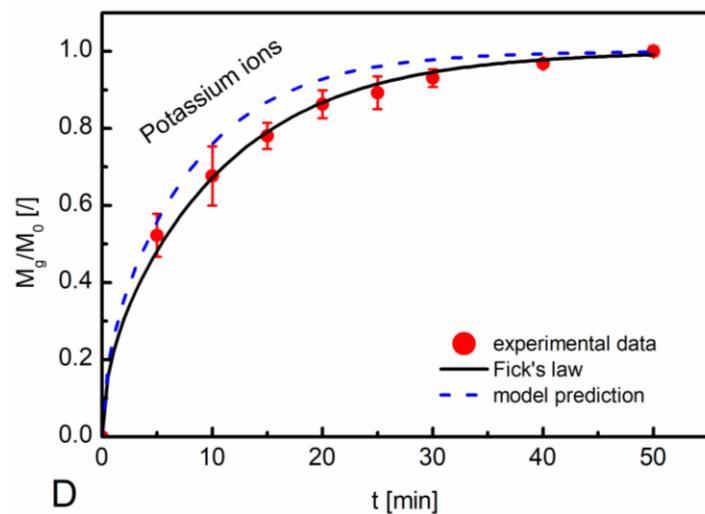
Odvisnost sproščanja elementov od časa lahko opišemo z grafi.



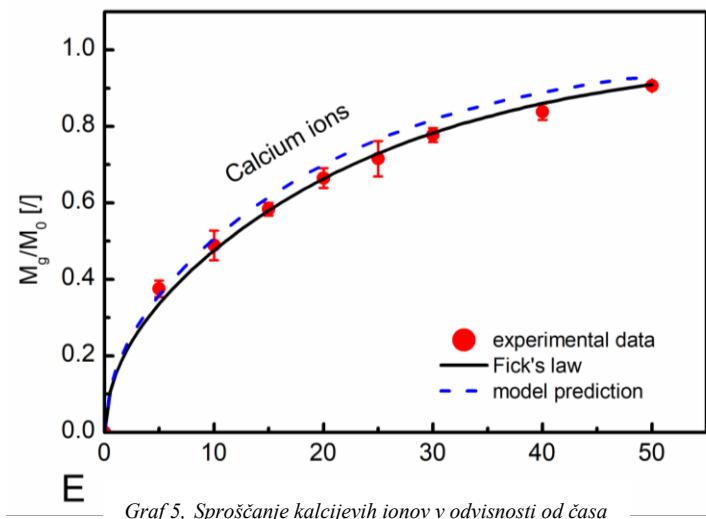
Graf 2, Sproščanje magnezijevih ionov v odvisnosti od časa



Graf 3, Sproščanje fosforjevih ionov v odvisnosti od časa



Graf 4, Sproščanje kalijevih ionov v odvisnosti od časa



Graf 5, Sproščanje kalcijevih ionov v odvisnosti od časa

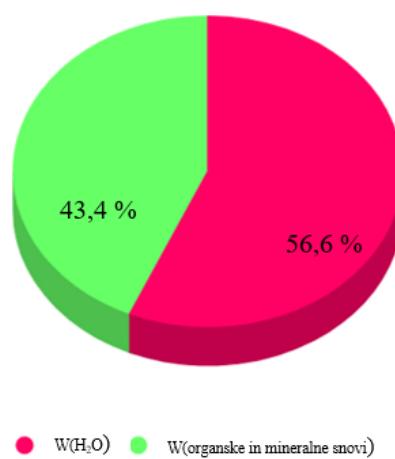
Točke (rdeče pike), ki smo jih pridobili s pomočjo ICP OES analize, ležijo na posameznih krivuljah (črne barve), ki jih določa Fickov zakon.

4.4. Primerjava sestave prsti in sestave hidrogela



Graf 6, Tortni prikaz sestave hidrogela

Oba hidrogela (z in brez hrani) je sestavljalo 94,99 % vode in 5,01 % organskih in mineralnih snovi.

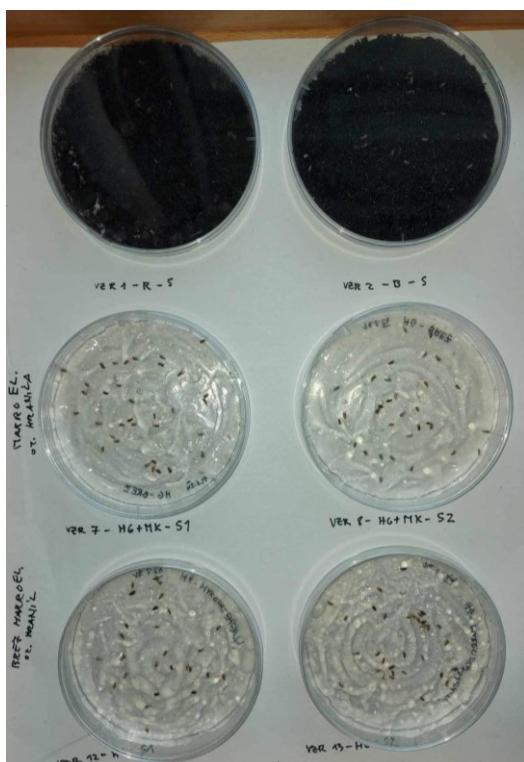


Graf 7, Tortni prikaz sestave prsti

Vzorec prsti je sestavljalo 56,60 % vode in 43,40 % organskih in mineralnih snovi (lubje, ostanki razkroja snovi, listje, med njimi tudi mikro- in makrohranila).

4.5. Rast endivije

1. DAN

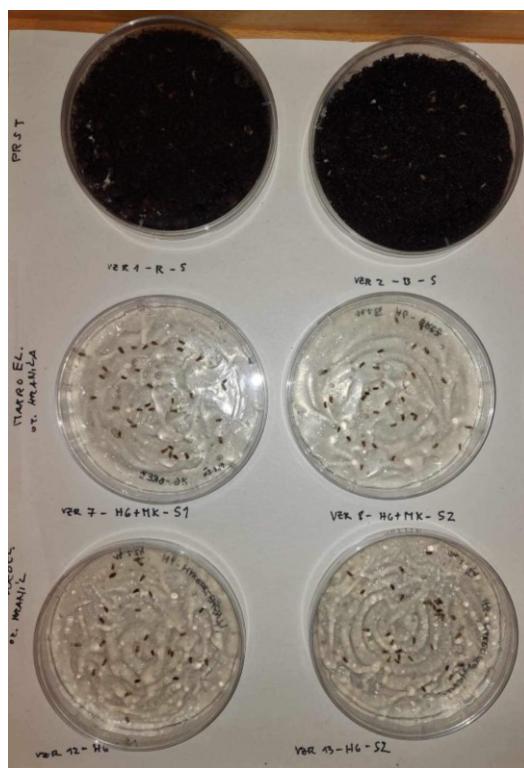


Slika 7, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13



Slika 8, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13

2. DAN



Slika 9, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13

Ni vidnih sprememb oziroma zaznane rasti rastlin.

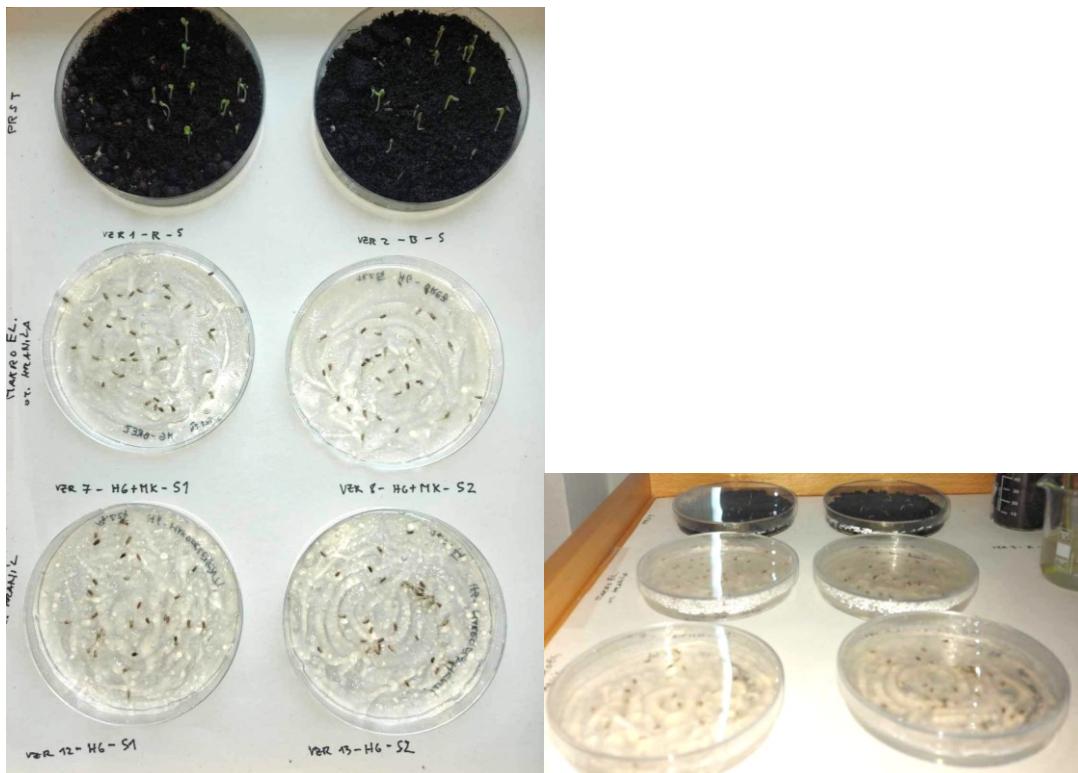
3. DAN



Slika 10, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – kaleča semena, v sredini VZR 7 in VZR 8, spodaj VZR 12 in VZR 13

Semena v VZR 1 in VZR 2 so začela kaliti in razvijati korenine. Semena v VZR 7 8, 12, 13, so brez vidnih sprememb.

4. DAN



Slika 11, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – rastoče rastline v sredini VZR 7 in VZR 8 – kaleča semena, spodaj

VZR 12 in VZR 13 – kaleča semena

Semena v prsti oz. VZR 1 in VZR 2 so poleg korenin že vidni poganjki. V VZR 7 in VZR 8 ter VZR 12 in VZR 13 so iz semen pognale korenine, ki so rastle v hidrogelnem substratu. Zvečer smo odstranili pokrove petrijevk, ker so se kaleče rastline dotikale pokrova.

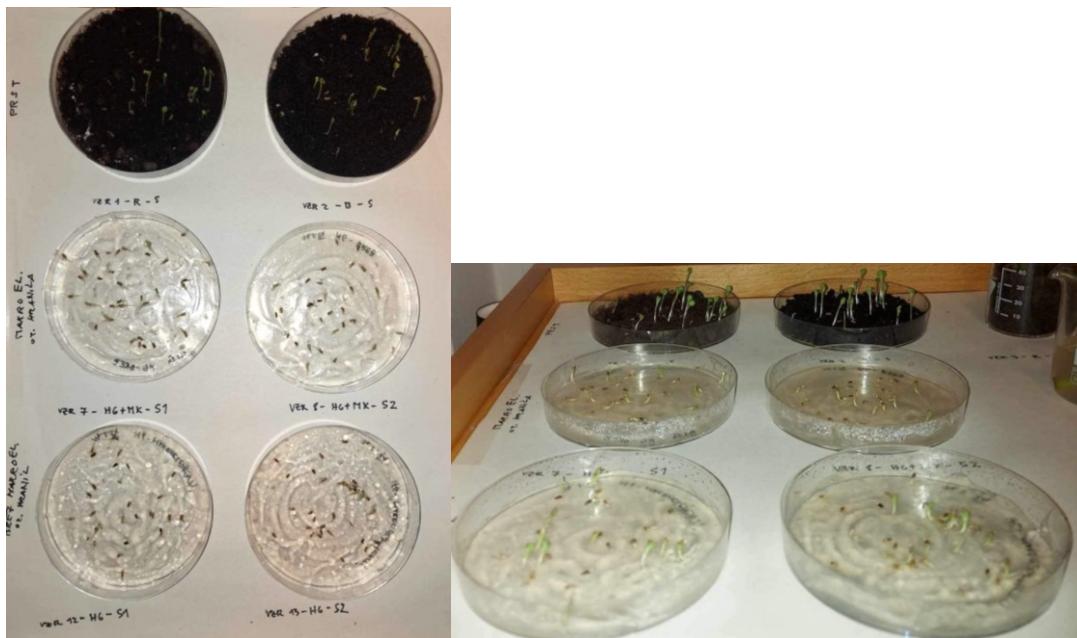
5. DAN



Slika 12, Zgoraj VZR 1 in VZR 2, v sredini VZR 7 in VZR 8 – kaleča semena, spodaj VZR 12 in VZR 13 – kaleča semena

Kaleče rastline v VZR1 in 2 so dokončno razvile poganjek in rastejo v višino. Rastline v VZR 7, 8, 12, 13, ki so prejšnji dan pognale korenine, sedaj vidno odganjajo poganjke. Rast je sicer počasnejša kot pri VZR 1, 2.

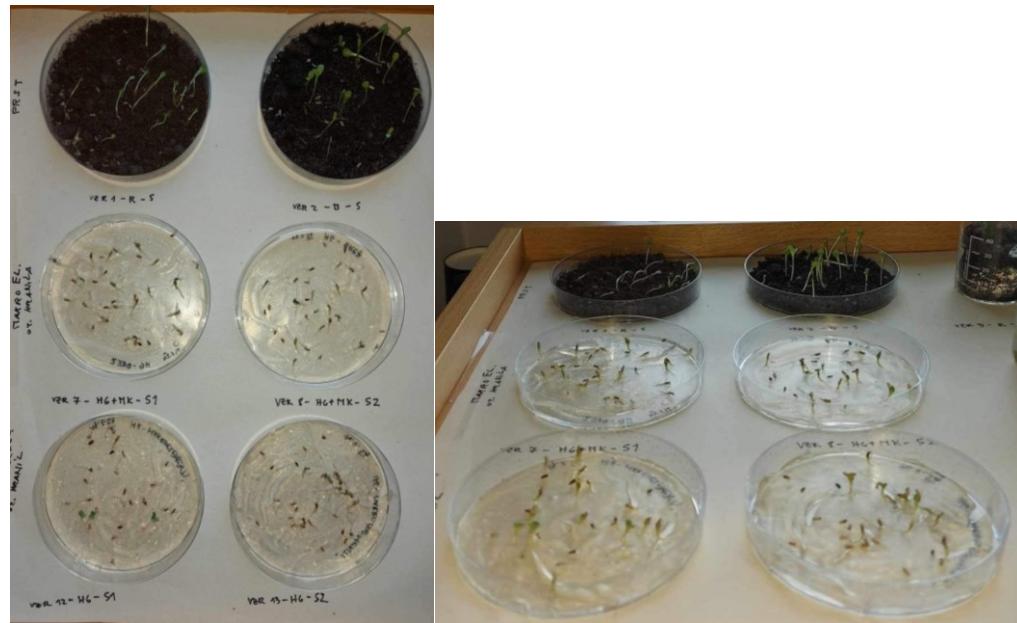
6. DAN



Slika 13, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – rast, v sredini VZR 7 in VZR 8 – rast kalečih rastlin , spodaj VZR 12 in VZR 13 – rast kalečih rastlin

Vzklila je večina semena v vseh vzorcih. V VZR1 in 2 poganjki rastejo v višino. Ni znakov dehidracije. V VZR 7, 8 poganjki rastejo z očitno zakasnitvijo. V VZR 12, 13 poganjki rastejo prav tako z zakasnitvijo, a so zrasli rahlo višje od poganjkov v VZR 7, 8.

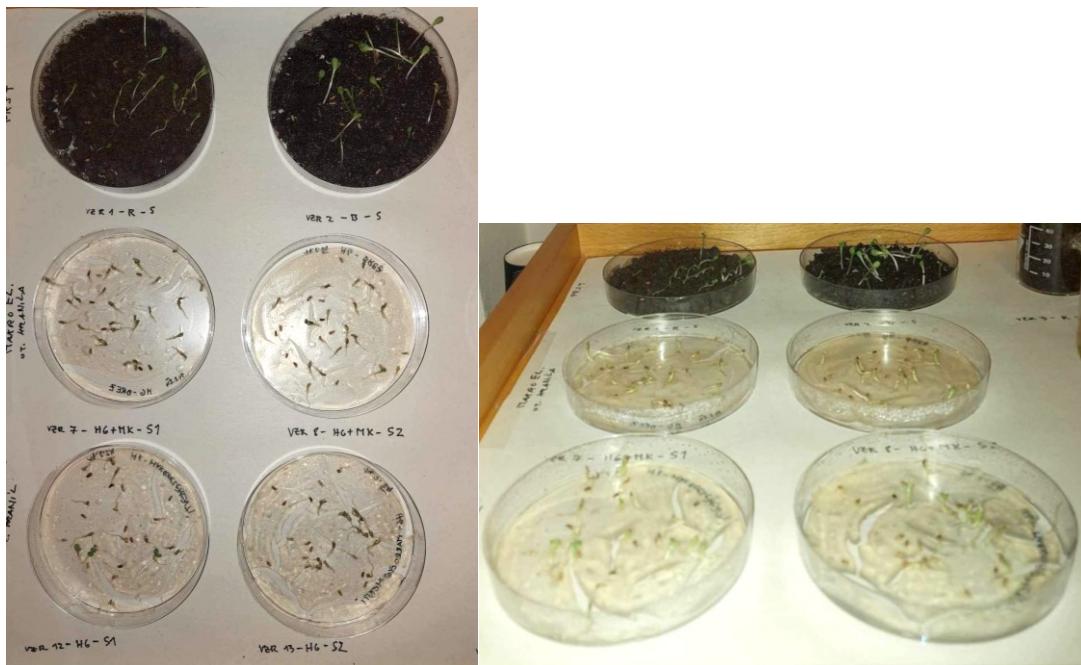
7. DAN



Slika 14, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – venenje rastlin, v sredini VZR 7 in VZR 8 – rast kalečih rastlin, spodaj
VZR 12 in VZR 13 – rast kalečih rastlin

V VZR 1, 2 se kažejo prvi znaki dehidracije. Poganjki se počasi polegajo, v VZR 1 bolj kot v VZR 2. Prst se počasi začenja izsuševati. Kalčki v VZR 7, 8, 12, 13 normalno rastejo, vidno so manjši od VZR 1, 2. Hidrogelni substrat je še vedno na otip vlažen, rastline ne kažejo znakov dehidracije. Vidnih razlik med VZR 7, 8 in VZR 12, 13 ni.

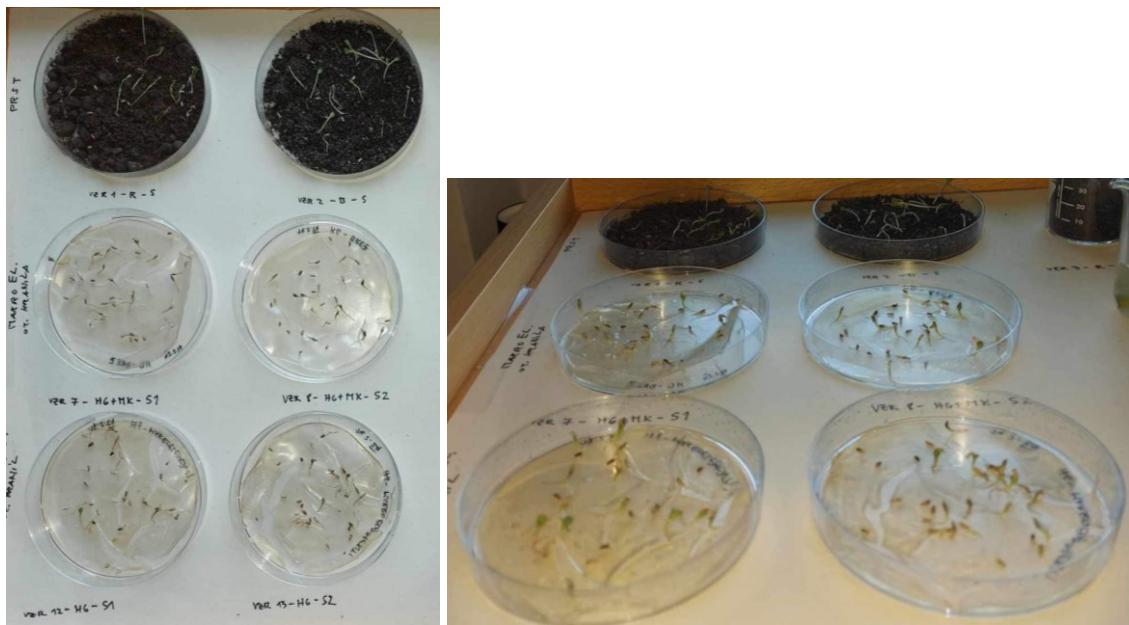
8. DAN



Slika 15, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – admiranje rastlin, v sredini VZR 7 in VZR 8 – razpoke v substratu,
spodaj VZR 12 in VZR 13 – razpoke v substratu

Rastline v VZR 1, 2 vidno propadajo, venijo in se sušijo. Zemlja je na otip suha. Rastline v VZR 7, 8, 12, 13 rastejo naprej. V hidrogelnem substratu se začenjajo pojavljati razpoke, njegova površina se zmanjšuje, a ostaja vlažen na otip.

9. DAN



Slika 16, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – admiranje rastlin, v sredini VZR 7 in VZR 8 – nove razpoke v substratu, spodaj VZR 12 in VZR 13 – nove razpoke v substratu

Rastline v VZR 1, 2 so dokončno propadle. Zemlja je popolnoma izsušena. Poganjki v VZR 7, 8, 12, 13 so prenehali rasti (gleda na dan poprej na višini vidno niso pridobili), niso oveneli ali izsušeni. Hidrogelni substrat se vidno izsušuje. Na otip je rahlo vlažen, ima vedno več razpok.

10. DAN



Slika 17, Zgoraj VZR 1 in VZR 2 – posušena zemlja, posušene rastline, v sredini VZR 7 in VZR 8 – posušen hidrogel., spodaj VZR 12 in VZR 13 – posušen hidrogel

VZR 1, 2 ostajata v istem stanju kot dan pred tem. Poganjki in zemlja so popolnoma posušeni. V VZR 7, 8, 12, 13 so rastline ovenele. Hidrogel je bil suh in razpokan.

11. Razprava

Prst Substral, Zemlja za gojenje zelenih rastlin (Rosliny Zielove), ki smo jo sušili, žarili (Graf 1 in 6), je bila precej bogata z minerali in organskimi snovmi, skupno 43,4 % vzorca prsti. Organske snovi (15,2 % vzorca prsti), kot so delci lubja in različni ostanki razkroja (listje, vejice), so pripomogle k nastanku zračnih žepkov in posledično k rahlosti substrata. Preostalo maso prsti (28,3 % vzorca prsti) so sestavljale anorganske snovi, kot so mikro- in makroelementi. Vsebnost vode zalite prsti je bila 56,6 %. Rezultati ICP OES analize (Tabela 1) izbrane prsti so pokazali, da vsebuje veliko različnih mikro- in makroelementov. Med pomembnejšimi najdenimi (Priloga 1–na koncu dokumenta) mikro- in makrohranili v prsti so bili Mg, Al, P, K, Ca, Fe, Cu, Zn, Mn in S. Kvantitativno so najbolj izstopali Mg, Al, P, K, Ca in Fe. [17]

Sintetizirali smo 2 različna hidrogela, enega z makroelementi in enega brez njih. Hidrogel je vseboval 94,99 % vode in 5,01 % organskih in mineralnih snovi predstavljenih v Grafu 7. Organske in mineralne snovi so bile v hidrogelu prisotne kot alginat in zamreževalce CaCl_2 , v hidrogelu s hranili pa še dodatno kot spojine z makroelementi (MgSO_4 , KNO_3 , $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$). Izbrane elemente, Mg, P, K in Ca, smo v enakih razmerjih kot v analizirani prsti (Tabela 1): Mg – 0,08 % na suho maso, P – 0,14 % na suho maso, K – 0,13 % na suho maso in Ca – 0,27 % na suho maso (suga masa je enaka seštevku mase alginata in zamreževalca) vključili v hidrogel z makroelementi. Ko smo opazovali in vzorčili sproščanje makroelementov iz hidrogela z makroelementi v vodo, smo lahko z ICP OES analizo določili točke (rdeče pike) na Grafih 2–5, koncentracije v odvisnosti od časa (magnezijevi ioni – Graf 2, fosfatni ioni – Graf 3, kalijevi ioni – Graf 4 in kalcijevi ioni – Graf 5). Vse točke ležijo na krivulji, ki jo predvideva Fickov zakon (črna krivulja). Iz Grafov 2, 3, 4 in 5 je dobro razvidno, kako se koncentracija makroelementov v raztopini s časom povečuje. S tem smo dokazali, da se iz sintetiziranega hidrogela z makroelementi učinkovito sproščajo enkapsulirani makroelementi, ki so nato lahko dostopni rastlini, ki raste v njem.

V tortnem diagramu sestave prsti (Graf 6) in sestave obeh hidrogelov (Graf 7), lahko vidimo drastično razliko v vsebnosti vode. Hidrogel vsebuje skoraj še enkrat toliko vode kot prst, medtem ko ima prst skoraj 9-krat več organskih in mineralnih snovi.

Po analizi sestave obeh susbstratov je sledila setev in opazovanje rasti semena endivije v prsti in obeh hidrogelih (z in brez makroelementov). Semena v izbrani prsti so 3. dan opazovanja uspešno vzkalila (Slika 10) in rasla do 7. dneva, ko so poganjki začeli kazati prve znake dehidracije (Slika 14). 8. dan (Slika 15) večina poganjkov ni več kazala znakov življenja, prst je bila na otip povsem izsušena. Enako velja za 9. in 10. dan (Slike 16 in 17).

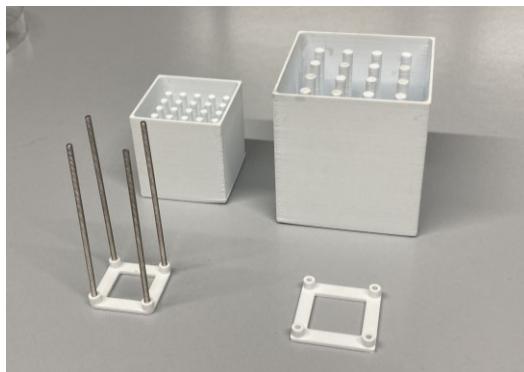
Mlade rastline endivije so v obeh vrstah hidrogelnih substratov (z in brez dodanih makroelementov) začele razvijati korenine šele dan kasneje kot v prsti, in sicer 4. dan (Slika 11). Hidrogelni substrat je prozoren, zato smo lahko opazovali rast, razvoj in orientacijo korenin. Rastline so normalno rasle in 5. dan (Slika 12) začele razvijati kalčke, sicer z zakasnitvijo od vzorcev prsti. Med vzorcem hidrogela, ki je vseboval hranila in tistim, ki jih ni, so se 6. dan pojavile zelo rahle razlike (Slika 13). Mlade rastline v hidrogelu brez hranil so zrasle višje, njihova rast je manj zaostajala. Razlike v rasti rastlin so se naslednji dan izenačile (Slika 14). 8. in 9. dan so se v obeh hidrogelnih substratih začele pojavljati razpoke zaradi izsuševanja (Slike 15 in 16). Rastline so nemoteno rasle naprej, saj je bil hidrogel še vedno vlažen na otip. 10. dan so rastline v obeh hidrogelnih substratih začele propadati, hidrogel se je vidno skrčil in razpokal (Slika 17). Ko smo mu po koncu eksperimenta dodali vodo, je spet nabreknil v svoje prvotno stanje, popolnoma nepoškodovan in pripravljen za ponovno uporabo. Pomanjkljivost raziskave je manjko kvantitativnih podatkov o višinah rastlin.

Če povzamemo, so bile rastline v prsti na začetku opazovanega časovnega intervala (3. in 4. dan) uspešnejše, saj so en dan prej kot rastline v hidrogelnem substratu razvile korenine in vzkalile. Oba hidrogela (z in brez makroelementov) sta bila proti koncu opazovanega časovnega intervala (7., 8., 9. dan) očitno uspešnejša, saj so rastline v hidrogelnih substratih še dva dni po propadu vzorcev rastlin v prsti, uspešno rasle in se razvijale. Očitnih, večjih razlik med rastlinami v hidrogelu z in brez hranil ni bilo.

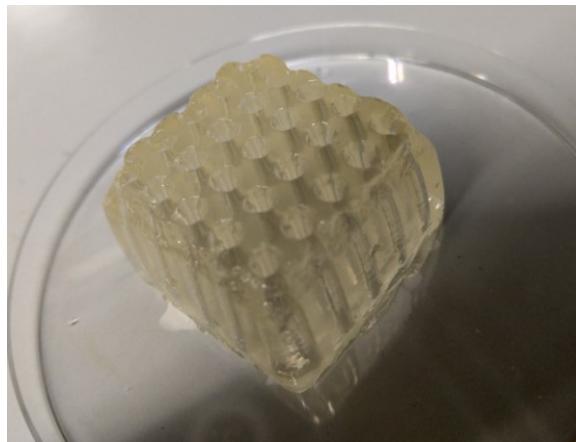
Predvidevamo lahko, da je razlog v tem, da so rastline v opazovanem obdobju hranila privzemale zgolj iz založnih snovi (učbenik – Biologija 2) in ne iz hidrogelnega substrata.

Opazili smo, da zaradi izhlapevanja vode in posledičnim razpokanjem hidrogela nismo na nikakršen način »uničili«. Ob ponovnem stiku z vodo se je vrnil v prvotno stanje in bil pripravljen za ponovno uporabo. Hidrogelnemu substratu lahko pripisemo lastnost obnovljivosti zgolj kar se tiče vode, glede dodanih makroelementov v spojinah tega ne moremo trditi.

Zaostanek rasti vzorcev v hidrogelu v primerjavi s prstjo v začetni fazi lahko pripisemo več razlogov. Prst je bila zaradi večjega organskega deleža veliko bolj prezračena kot hidrogelni substrat, ki je bil zbit skupaj in brez zračnih žepkov. Rastlinam oz. koreninam v hidrogelu je tako verjetno primanjkovalo kisika, ki je ključen za uspešno rast in razvoj. Problem bi lahko rešili s sintezo poroznega hidrogela, ki bi preko por omogočal koreninam dostop do kisika. Ta problem smo z dodatnim nadaljnjjim eksperimentiranjem skušali testno rešiti z oblikovanjem 3D modela (Slika 18), ki je v hidrogelu ustvaril zračne žepke oz. pore. Tako smo ustvarili porozni hidrogel (Slika 19), ki je imel žepke oz. pore zraka.^[17]



Slika 18, 3D model za oblikovanje poroznega hidrogela



Slika 19, Poskusni porozni hidrogel z žepki zraka

Poleg verjetnega pomanjkanja kisika so rastline v hidrogelu doživele tudi pomanjkanje vseh ostalih mikro- in makrohranil, ki jih mi nismo dodali. Med njimi je najpomembnejši dušik, ki ga z ICP OES analizo nismo mogli izmeriti, ne v prsti ne v hidrogelih. Prisoten je bil sicer v nekaterih spojinah, ki smo jih dodali v hidrogel s spojinami z makroelementi (KNO_3 in $(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$), a ne moramo vedeti, v kakšnih razmerjih glede na analizirano prst in če je bil v obliki, ki je rastlini dostopna (nitrati, nitriti in amonijev ion). V nadalnjih raziskavah bi ta problem preprosto rešili z merjenjem prisotnosti dušika s spektrofotometrijo. Kemikalij, ki smo jih uporabljali za sintezo hidrogela, nismo avtoklavirali, zato obstaja možnost kontaminacije, ki bi lahko vplivala na rast rastline. To bi lahko zmanjšali z avtoklaviranjem materialov in kemikalij. Avtoklavirali bi tudi vzorec prsti.

To, da so vse rastline v vseh treh vzorcih propadle, je bilo pričakovano, saj smo tako zastavili eksperiment. Tako smo preverjali, kateri substrat (prst ali hidrogel) lahko brez zalivanja dlje oskrbuje rastlino z vodo. Nadaljnje raziskovanje bi lahko potekalo tako, da bi sproti zalivali vse substrate ter opazovali, kolikšno količino vode bi porabili pri posameznem vzorcu. Bolj do izraza bi prišlo privzemanje hranil rastlin, saj bi imele več časa za rast in razvoj. Vzorce hidrogela bi lahko z dodajanjem in odvzemanjem različnih mikro- in makro hranil prilagodili na različne vrste prsti oz. različnim potrebam rastlin.

Naknadno smo zasnovali še dodaten poskus, v katerem smo uporabili hidrogel z makroelementi za gojenje potaknjencev pothosa (*Epipremnum aureum*), priljubljene sobne rastline. Potaknjenci so dlje časa uspešno rasli v hidrogelnem substratu (Slika 20).



Slika 20, Gojenje pothosa v hidrogelu z makroelementi

12. Sklep

Z raziskovalno nalogo smo želeli ustvariti novo obliko substrata, ki bi bil enostaven za uporabo in omogočal rast rastlinam. V povezavi z zastavljenimi cilji smo si predhodno zastavili naslednje štiri hipoteze:

I Hidrogel je ustrezen substrat za rast rastlin.

Prvo hipotezo lahko v celoti sprejmemo. Hidrogel je kot substrat rastlinam omogočal kaljenje, rast in razvoj.

II Hidrogel je na otip dlje časa vlažen kot prst, zato rastline v njem uspevajo dlje časa.

Drugo hipotezo lahko sprejmemo. Hidrogelni substrat je vodo zadržal in naredil dostopno rastlini za dlje časa kot izbrana prst. Rastline v hidrogelnem substratu so brez dodatnega zalivanja preživele dlje kot tiste v izbrani prsti.

III Rastline endivije rastjo hitreje in dlje časa v hidrogelu z dodanimi makroelementi v spojinah kot rastline, ki rastejo v prsti.

Tretje hipoteze ne moremo ne sprejeti ne zavrniti zaradi premajhnega števila rezultatov in pomanjkljivosti v metodologiji.

IV Rastline endivije v hidrogelu z dodanimi makroelementi uspevajo dlje časa kot rastline v hidrogelu brez dodanih makroelementov v spojinah.

Četrte hipoteze ne moremo ne sprejeti ne zavrniti zaradi premajhnega števila rezultatov in pomanjkljivosti v metodologiji.

13. Zaključek

Namen raziskave je bil najti rešitev za vedno večje pomanjkanje vode in rodovitnih površin za gojenje rastlin. Navezajoč se na to, je bil cilj raziskave ustvariti cenovno dostopen, funkcionalen in rodoviten substrat, ki je glede prisotnosti hranil podoben prsti, sposoben pa je zadrževati več vode in z njo dlje oskrbovati rastlino. Sintetizirali smo alginatni hidrogel z omenjenimi lastnostmi in v njem uspešno 10 dni gojili rastlino vrste *Cichorium endivia*, splošno znana kot endivija. Z uporabo biopolimera alginata in zamreževalca CaCl_2 ter biokompatibilnih molekul smo ustvarili funkcionalen substrat.

Možnosti za nadaljevanje in nadgradnjo dosedanjega raziskovanja je veliko. Eksperiment bi lahko nadgradili z dodatno predhodno analizo prsti in hidrogela s spektrofotometrijo, tako bi lahko določili delež dušika, ki ga z ICP OES analizo nismo mogli. Prav tako bi podaljšali čas opazovanja rasti rastlin z dodatnim zalivanjem in merjenjem velikosti rastlin.

Raziskava gre lahko v smer razvoja hidrogelnega substrata kot komercialnega izdelka, ki bi bil zaradi svojih lastnosti, kot so biokompatibilnost, zmožnost zadrževanja vode in posledično varčevanja z vodo ter enostavne uporabe, dostopen širši javnosti.

Gojenje in rast rastlin v hidrogelnem substratu je obetavno področje raziskav, s potencialnimi odgovori na velika in zastrašujoča agronomска, okoljevarstvena, naravovarstvena ter vesoljska vprašanja današnjega časa.

15. Literatura

- [1] S. Bashir, M. Hina, J. Iqbal, A. H. Rajpar, M. A. Mujtaba, N. A. Alghamdi, S. Wageh, K. Ramesh, S. Ramesh: Fundamental Concepts of Hydrogels: Synthesis, Properties, and Their Applications. *Polymers*. MDPI AG November 2, 2020, pp 1–60.
- [2] E. M. Ahmed: Hydrogel: Preparation, Characterization, and Applications: A Review. *Journal of Advanced Research*. Elsevier B.V. 2015, pp 105–121.
- [3] M. Beaumont, R. Tran, G. Vera, D. Niedrist, A. Rousset, R. Pierre, V. P. Shastri, A. Forget: Hydrogel-Forming Algae Polysaccharides: From Seaweed to Biomedical Applications. *Biomacromolecules* **2021**, *22*, 1027–1052.
- [4] M. S. Hasnain, E. Jameel, B. Mohanta, A. K. Dhara, S. Alkahtani, A. K. Nayak: Alginates: Sources, Structure, and Properties. In *Alginates in Drug Delivery*; Elsevier, 2020; pp 1–17.
- [5] C. Hu, W. Lu, A. Mata, K. Nishinari, Y. Fang: Ions-Induced Gelation of Alginate: Mechanisms and Applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V. April 30, 2021, pp 578–588.
- [6] I. Agilent Technologies: An Introduction to the Fundamentals of Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES).
- [7] P. Stušek, Škornik Sonja, Vodnik Dominik: *Zgradba in Delovanje Organizmov*, 1.; Bojan Petan, Ed.; DZS, založništvo in trgovina, d.d.: Ljubljana , 2012.
- [8] d. o. o Semenarna Ljubljana: Endivija Eminence, Cichorium Endivia Var. Latifolia. Semenarna Ljubljana, d.o.o: Kolodvorska ulica 9, 1000 Ljubljana, Slovenia 2022.
- [9] R. Špiler, Štruc Tjaša: Endivija vzgoja - kdaj in kako sejati.
- [10] Belušič Gregor, Koce Dolenc Jasna, Turk Martina, Vittori Miloš, Zalar Polona: *Biologija 2- O Zgradbi in Delovanju Organizmov*, 4.; Mladinska knjiga Založba, d.d.: Ljubljana, 2022.

- [11] L. Ma, C. Chai, W. Wu, P. Qi, X. Liu, J. Hao: Hydrogels as the Plant Culture Substrates: A Review. *Carbohydr Polym* **2023**, *305*, 120544.
- [12] Y. Guan, H. Cui, W. Ma, Y. Zheng, Y. Tian, J. Hu: An Enhanced Drought-Tolerant Method Using SA-Loaded PAMPS Polymer Materials Applied on Tobacco Pelleted Seeds. *Scientific World Journal* **2014**, *2014*.
- [13] P. Kaur, R. Agrawal, F. M. Pfeffer, R. Williams, H. B. Bohidar: Hydrogels in Agriculture: Prospects and Challenges. *Journal of Polymers and the Environment*. Springer September 1, 2023, pp 3701–3718.
- [14] M. Biro, M. Onišak Mentorja, dr Primož Titan, mag Alenka Mujdrica Rožman Šola, B. šola Rakičan: *56. Srečanje Mladih Raziskovalcev Slovenije VPLIV HIDROGELA NA RAST IN PRIDELEK PAPRIKE (Capsicum Annum L.)*.
- [15] M. Sarvaš, P. Pavlenda, E. Takáčová: *Effect of Hydrogel Application on Survival and Growth of Pine Seedlings in Reclamations*; 2007; Vol. 53.
- [16] *Creating a Sustainable Food Future a CREATING A SUSTAINABLE FOOD FUTURE WORLD RE SOURCE S REP OR T.*
- [17] J. W. Boodley: *SOIL AERATION*.

Priloga 1

Tabela vseh elementov ICP OES analize prsti za gojenje sobnih rastlin – Substral

Zemlja za gojenje zelenih rastlin (Rosliny Zielove)

element	Li [3]	Be [4]	Na [11]	Mg [12]	Al [13]	P [15]
konc.	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
	1,871962	0,073202	91,28163	826,506	2356,766	1434,949
element	K [19]	Ca [20]	Ti [22]	V [23]	Cr [24]	Mn [25]
konc.	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
	1299,515	17341,23	209,2346	8,291585	6,02805	264,1762
element	Fe [26]	Co [27]	Ni [28]	Cu [29]	Zn [30]	Ga [31]
konc.	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
	6058,752	<0,29	2,892616	40,90987	24,09815	0,744671
element	As [33]	Se [34]	Rb [37]	Sr [38]	Mo [42]	Ag [47]
konc.	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
	6,383244	<4,7	3,367038	26,56256	18,011	<0,13
element	Cd [48]	In [49]	Sn [50]	Sb [51]	Te [52]	Ba [56]
konc.	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]	[ppm]
	0,233765	<4,2	<2,4	<2,4	<2,9	28,88957
element	Tl [81]	Pb [82]	Bi [83]			
konc.	[ppm]	[ppm]	[ppm]			
	<1,7	6,466949	<1,9			