



Fyziologie rostlin - cvičení

10. Kultivační experiment



Techniky kultivace rostlin

Kultivace rostlin za definovaných podmínek prostředí je jedním ze základních přístupů k získávání poznatků o fyziologii rostlin.

Klíčové faktory kultivace rostlin:

- Klimatické podmínky (zejména nadzemní část)
- Kultivační médium (podzemní části)



Klimatické podmínky

- teplota; relativní vzdušná vlhkost (RH); ozáření rostlin, spektrální složení záření
- průměrné hodnoty, maxima, minima
- periodičita podmínek:
simulace přirozeného denního nebo i sezónního rytmu (např. střídáním ročních období)



Klimatické podmínky

Podle stupně regulace podmínek:

- *kultivace ve fytotronech*
- *kultivace ve sklenících*
- *venkovní kultivace*

Kultivace ve fytotronech

Umělé uzavřené systémy umožňující

- regulaci teploty (tepelné výměníky, topení)
- Regulaci vlhkosti vzduchu (zvlhčovače, vysoušeče)
- Regulaci ozáření a spektrálního složení
- Nastavení časových změn všech klimatických faktorů
 - fotoperioda (např. 12/12 hodin světlo/tma)
 - teplota den/noc (např. 22/18 (± 2) °C)
 - Vlhkost den/noc (70/85 (± 10) %)

Výhody: zjednodušení klimatických podmínek umožňuje lepší reprodukovatelnost výsledků

Omezení: plynulost přechodů změn faktorů, zejména intenzity ozáření a spektrálního složení





Kultivace ve sklenicích

Umožňuje významně ovlivňovat faktory prostředí (teplota, vlhkost, závlaha, záření, fotoperioda) ovšem v menší míře než u fytotronů.

Výhody:

- zdroj záření – slunce (přirozené spektrální složení, vyšší intenzita než u fytotronů; možnost doplňkového osvětlení)
- větší plocha pro rozsáhlejší experimenty

Omezení:

- Potíže se stabilizací teploty



<http://www.ekobydleni.eu/biopotraviny/britanie-ma-nejvetsi-hydroponicky-sklenik>



<http://www.biology.duke.edu/plantfacility/phytotron/facilities/greenhouses.htm>

<http://www.everythingsimple.com/1963/buildingbuying-a-greenhouse/>



Venkovní kultivace

Omezené možnosti regulace pěstebních podmínek, mezisezónní rozdíly.

Klimatické podmínky sledovány na základě kontinuálního záznamu (klimatická ústředna)

Výhody:

- ▶ nejpřirozenější podmínky podobné těm, ve kterých rostou v přírodě
- ▶ prakticky neomezená plocha





Kultivační médium


Kultivační médium/pěstební médium/substrát

poskytuje rostlinám:

- prostor pro růst kořenů
- zásobu vody a živin
- umožňuje výskyt (nejen symbiotických) mikroorganismů

Hlavní typy kultivačních médií:

- **vodní (hydroponické) kultury rostlin**
- **agarové kultury**
- **pískové kultury**
- **půdní kultury**



Vodní kultury (hydroponie)

Živný roztok - médium pro růst kořenů a zdroj vody a živin. Roztok anorganických solí prvků hlavních makro- a mikroživin.

Výhody

- snadná definovatelnost a příprava živného média
- dostupnost, technická nenáročnost, cena

Nevýhody

- odlišnost vlastností půdního prostředí absence symbióz (mykorrhiza; fixace N₂)

Alternativa: aeroponické kultury (kořeny rostlin jsou smáčeny aerosolem živného roztoku) – prevence hypoxie



Vodní (hydroponické) kultury rostlin

Typy vodních kultur:

promíchávané kultury (proti difúzním gradientům kolem kořenů)

okysličované kultury (u rostlin citlivých na hypoxii - anoxii)

dle vlastností živného média v průběhu kultivace

- **stacionární kultury** - bez výměny média; krátkodobé
- **průtokové kultury** – výměna média
 - periodické
 - kontinuálnípH-stat, chemostat,



<http://www.growtoronto.com/tag/water-culture-sys>



http://www.bioquant.uni-heidelberg.de/research/groups/ag_kraemer/research_topics

Agarové kultury

Živný roztok dostupný v agaru, regulátory růstu

- ▶ opora pro kořeny rostlin
- ▶ možnost symbiózy
- ▶ *in vitro* kultivace zejména tkáňových a meristémových kultur





Anorganické substráty

kultivace na inertním pevném nosiči – písek, perlit, zeolit, keramzit, minerální vata (Rockwool);

Všechny živiny dodány formou živného roztoku

Výhody

- Přesná regulace dodávaných živin
- Přirozenější fyzikální prostředí pro kořeny (tvorba kořenového vlášení)
- Možnost tvorby kořenových symbióz

Omezení

- Menší kapacita pro vodu
- Omezená mikrobiální



<http://www.flickr.com/photos/thehydrobro/3483800558/>



<http://www.hydroponicgardening.homehydroponics.info/category/hydroponic-systems>



http://www.ehow.co.uk/how-does_4614895_hydroponics-tomato-grower-work.html



<http://www.flickr.com/photos/thehydrobro/>



Půdní kultury

využívají jako pěstební médium půdu –
přírodní, upravenou, připravenou

možnost úprav média:

- sterilizace (teplem, chemicky, gama záření)
- ředění inertním materiálem (písek, zeolit)
- Příprava vlastního složení (poměry složek)
- Přidavku symbiotických organismů (inokulace)

Výsledky dobře aplikovatelné na konkrétní
ekologické podmínky

Obtížné nastavení dostupnosti živin a obtížná
opakovatelnost



<http://www.stapeliads.info>



<http://forum.grasscity.com/coco-coir/>



<http://fungardener.wordpress.com/2009/12/05/hydroponics-signs-of-success/>



Praktická část

Provedení experimentu

Vliv úplné deficiencie vybraných živin na rúst kukuřice (*Zea mays* L.)

Cíl: Zjistit, jak ovlivňuje úplná deficiencie vybraných živin (N, P, Fe) rúst a morfologické charakteristiky kukuřice (*Zea mays* L.)

Materiál a pomůcky:

Zea mays - v destilované vodě hydroponicky předpěstované, cca 5 dní staré rostliny

Kultivační vany, upevňovací materiál (pěnové zátky)
Zásobní roztoky pro přípravu Reid-Yorkova živného roztoku, odměrný válec, destilovaná voda



Průběh experimentu

- Založení experimentu
- Výměna kultivačních roztoků
- Sběr dat a vyhodnocování
 - Vizuální pozorování
 - Analýza růstu rostlin
 - Parametry růstové analýzy
 - Odběr biomasy >> analýzy
- Vyhodnocení



Založení experimentu

- Připravíme kultivační vany s roztokem (Reid-York) pro všechny varianty experimentu (kontrola, -N, -P, -Fe a 5L). >>Pozor na vysrážení solí
- Naklíčené rostliny po dvojicích upevníme do otvorů víka kultivačních van s roztokem
- Rostliny umístíme v částečně klimatizovaném skleníku, kultivace bude probíhat po dobu několika týdnů.
- V týdenních intervalech vyměňovat živné roztoky za nové, čerstvě připravené.

Tabulka pro přípravu živného Reid-Yorkova roztoku ze zásobních koncentrovaných roztoků. Množství v ml na 1L roztoku

	KH_2PO_4	KCl	CaCl_2	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	NH_4NO_3	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Mikro elementy
kontrola	5	5	5	5	5	5	1,5
-N	5	5	5	5	-	5	1,5
-P	-	5	5	5	5	5	1,5
-Fe	5	5	5	5	5	-	1,5



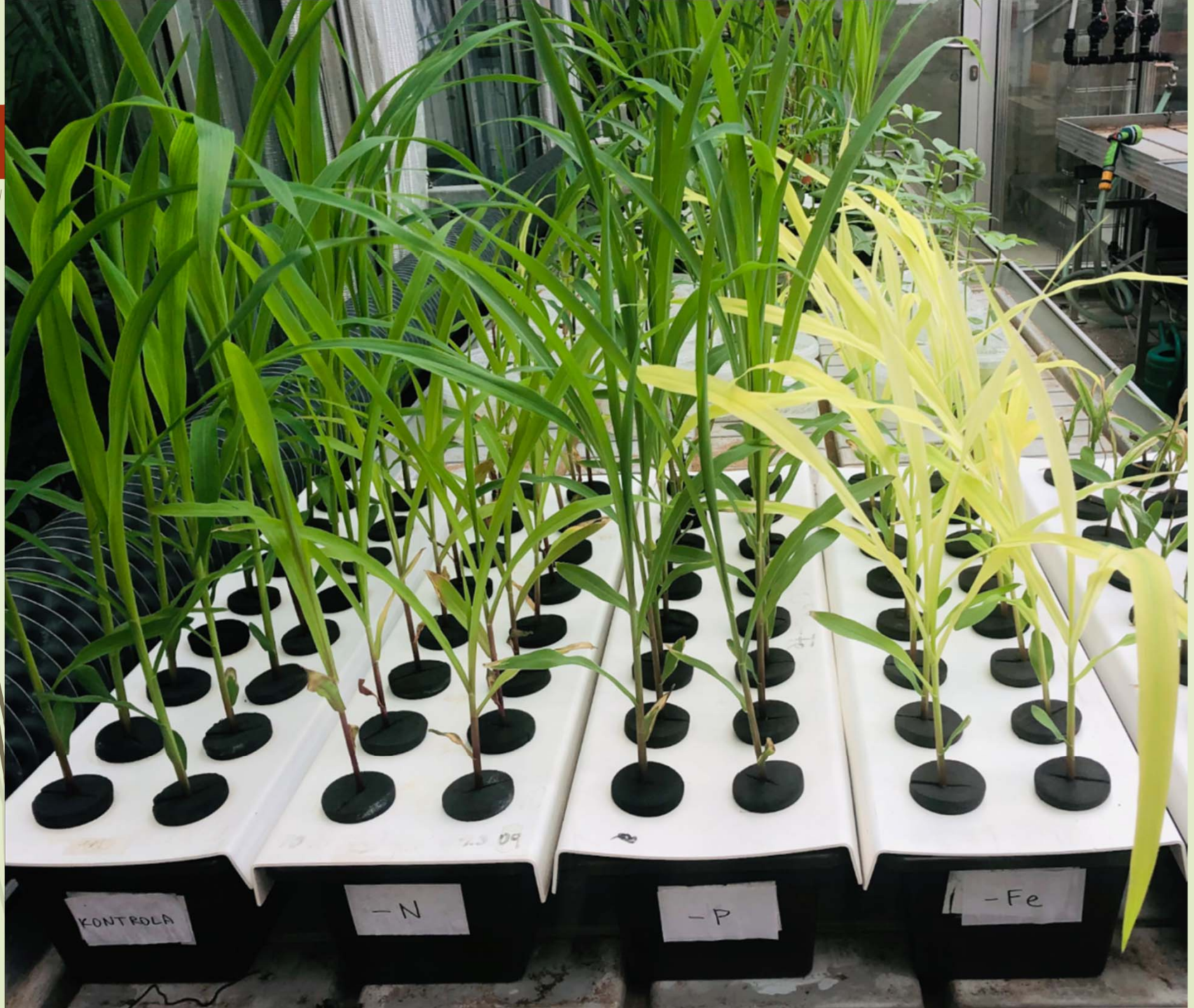


Úkoly pro protokol:

- Vypočtete molární koncentrace N-NH₄ a N-NO₃, P a K v plné, kontrolní variantě!
- Zásobní roztoky makroelementů (200× koncentrované) jsou připraveny tak, že každý roztok soli je v samostatné lahvi. Jaký je k tomu důvod?
- Popište detailně souvislým textem (rozsah zhruba 10 řádků) kultivační podmínky, za kterých provádíte kultivační experiment!

Měření a zpracování dat





KONTROLA

-N

-P

-Fe



Analýza růstu rostlin

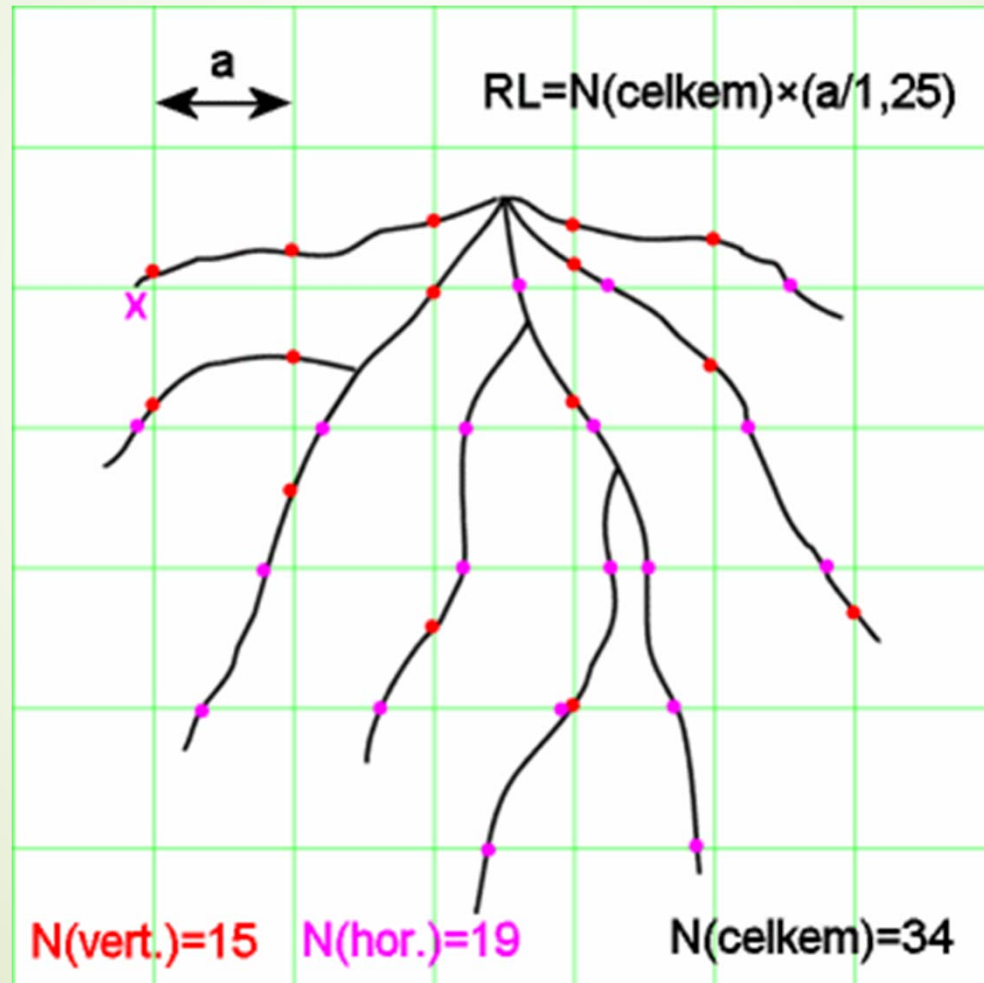
Rozbor znaků ovlivňujících růst rostliny, určení příčin zpomaleného růstu při působení deficiencie

Přímo stanovené znaky

- suchá hmotnost (DM)
- listová plocha – LA (cm²)
- délka kořenů – RL (cm)
 - průsečíková metoda – GLI
 - náhodné uspořádání
 - $RL = N \times (a/1,25)$

Měření délky kořenů: Průsečíková metoda

Grid-line intersect method



Hodnocení rostlin při destruktivním odběru

➤ Vizuální

- výška rostlin, vzhled, obsah asimilačních pigmentů, rozvoj kořenového systému

➤ Destruktivní analýza

- výběr rostliny, popis (exp. varianta, jméno, skupina, zjištěné hodnoty LA a RL)
- stanovení listové plochy ($LA <0,1 \text{ cm}^2>$) => DM listů
- stonek => DM stonku
- stanovení RL (GLI) => DM kořenů (bez obilky)
- Stanovení sušiny (DM)
 - části rostlin v označených papírových sáčcích
 - sušení do dosažení konstantní hmotnosti (80°C ; ca. 24h)
 - stanovení suché hmotnosti rostlin a jejich částí (0,001g)

Počítané znaky růstové analýzy

Zkratka	Název veličiny	Výpočetní vzorec	Jednotky
LAR	poměrná olistěnost (leaf area ratio)	$LAR = LA / DM_{\text{plant}}$	$\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$
SLA	specifická listová plocha (specific leaf area)	$SLA = LA / DM_{\text{leaves}}$	$\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$
SRL	specifická kořenová délka (specific root length)	$SRL = RL / DM_{\text{roots}}$	$\text{m} \cdot \text{kg}^{-1}$
LMR	poměrná hmotnost listů (leaves mass ratio)	$LMR = DM_{\text{leaves}} / DM_{\text{total}}$	bez rozměru
SMR	poměrná hmotnost stonku (stem mass ratio)	$SMR = DM_{\text{stem}} / DM_{\text{total}}$	bez rozměru
RMR	poměrná hmotnost kořenů (roots mass ratio)	$RMR = DM_{\text{roots}} / DM_{\text{total}}$	bez rozměru
RSR	poměr hmotnosti kořenů k nadzemní části rostliny	$RSR = DM_{\text{roots}} / (DM_{\text{leaves}} + DM_{\text{stem}})$	bez rozměru

Vyhodnocení experimentu

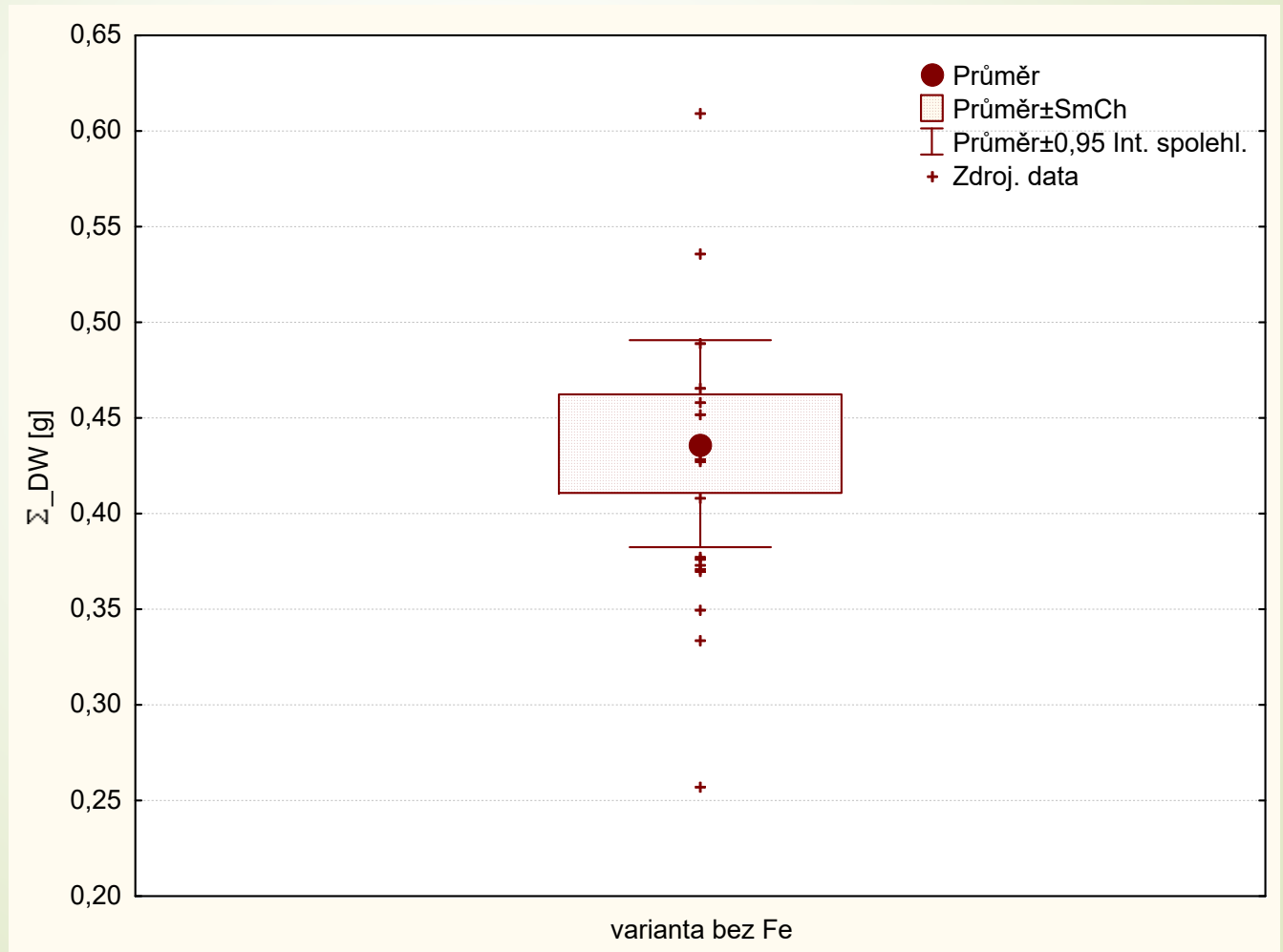


Postup vyhodnocení experimentu

- Protokoly se základními naměřenými daty
- Výpočty odvozených znaků růstové analýzy
- Statistická analýza
 - jednocestná analýza rozptylu (ANOVA)
 - test nejmenšího průkazného rozdílu průměrů (LSD; $\alpha=0,05$)
- Přehledná tabulka průměrných hodnot znaků růstové analýzy pro destruktivní odběr se statistickou průkazností
- Slovní hodnocení výsledků

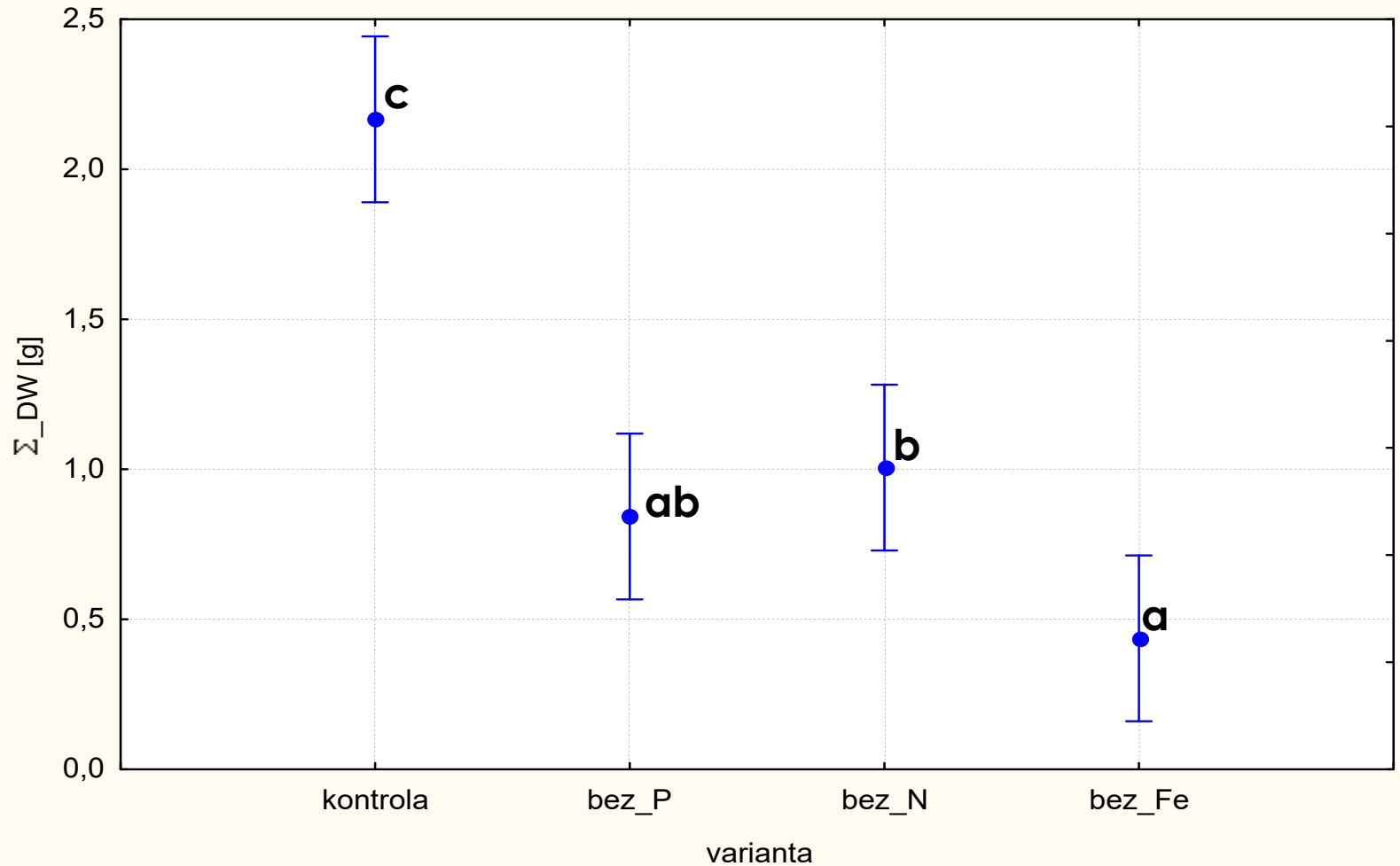
Vysvětlení statistických pojmů na příkladu znaku sušina celé rostliny:

průměr, směrodatná odchylka, interval spolehlivosti



Vysvětlení principu určení statisticky významného rozdílu mezi průměry

Graf Σ_DW 2.odběr v KultExp-results2010
Vertikální sloupce označují 0,95 intervaly spolehlivosti



Příklad výsledkové tabulky

Kultivační experiment

1. odběr

varianta	LA[cm ²]	RL[cm]	DWR[g]	DVWS[g]	DWL[g]	Σ DW[g]	LAR[cm ² /g]	SLA[cm ² /g]	SRL[cm/g]	LMR	SMR	RMR	RSR													
kontrola	188.8	c	106.9	a	0.094	b	0.131	a	0.282	c	0.507	c	392.7	b	715.5	a	1471.1	ab	0.558	c	0.263	a	0.179	a	0.256	a
bez P	134.9	b	124.8	a	0.082	ab	0.129	a	0.186	b	0.398	b	354.6	ab	819.0	a	1694.6	bc	0.470	ab	0.324	a	0.206	a	0.263	a
bez N	97.9	a	162.1	c	0.089	ab	0.103	a	0.132	a	0.324	ab	304.6	a	779.9	a	1970.7	c	0.415	a	0.312	a	0.272	b	0.382	b
bez Fe	80.2	a	56.7	b	0.068	a	0.095	a	0.135	a	0.287	a	304.6	a	659.9	a	1104.2	a	0.493	bc	0.291	a	0.216	a	0.284	ab

Otázky a úkoly

- 1. Popište rozdíly mezi variantami pro znak celková sušina. (Tip: Začněte s popisem rozdílů ve vztahu ke kontrolním rostlinám.)
- 2. Ovlivnila deficiencie prvků rozvoj listů? Pokud ano, v jakých znacích? U které deficiencie byl efekt nejvýraznější?
- 3. Reagovaly rostliny na některý typ deficiencie změnou morfologie kořenového systému? K hodnocení využijte znaky RMR a SRL.
- 4. Ze znaku RMR a LMR porovnejte jednotlivé varianty z hlediska strategie udržení rovnováhy mezi rychlostí asimilace uhlíku a rychlostí příjmu minerálních živin.