

Se zvyšující se koncentrací osmoticky aktivních látek klesá vodní potenciál půdy, což má za následek snížení dostupnosti vody rostlinám. Toxické působení sodných a chloridových iontů rostliny omezují na oblast kořenů a brání jejich volnému transportu do nadzemních částí, kde se tedy bude projevovat spíše nedostatek vody než samotné toxické působení nadbytku NaCl. Na celkovém vzhledu rostlin se mohou rovněž projevit interakce sodných a chloridových iontů s jinými prvky (inhibice příjmu nitrátů a vápenatých iontů).

H1: S rostoucí koncentrací NaCl se zpomalí zejména růst (ztrátou turgoru) a poklesne obsah vody v listech.

H2: Kvůli snížené dostupnosti vody rostliny omezí ztráty vody transpirací zavřením průduchů, což negativně ovlivní rychlost asimilace.

H3: Při akutním působení strusu zasolením (případně i související snížené dostupnosti vody) předpokládáme celkové snížení metabolismu a tedy i rychlosti respirace, kdy rostliny budou moci mimo jiné využívat pouze snížené množství asimilátů (viz H2).

H4: Extrémnější koncentrace NaCl mohou způsobit odumírání buněk listů skrze nedostatek vody.

H5: Extrémnější koncentrace NaCl (a tedy dehydratace) mohou poškodit PSII.

#### **Materiál:**

- Předpěstované rostliny kukuřice
- Popisovače a označovací štítky
- Metr, posuvné měřidlo
- Senzory pro měření vlhkosti půdy (Theta Probe)
- Gazometr (Ciras 3)
- Gazometrický systém Qubit
- Fluorometr (FluorPen AP100)
- Senzor pro záznam teploty a vlhkosti vzduchu (Minikin RTHi)
- Laboratorní váhy, papírové sáčky, nůžky, papírové utěrky
- Obrněný notebook (nastavení dataloggeru+)
- Redestilovaná voda, zkumavky 50ml (20 ks), korkovrt + podložky, pinzeta, pipeta
- Třepačka
- Sonda pro měření vodivosti výluhů
- NaCl, ideálně 3 odměrné baňky (*?objem? počítám tak půl litru roztoku/květináč? Je reálné?*)
- Skener

#### **Založení**

Pozn. Zvolte pořadí rostlin během jejich zpracování tak, abyste během cvičení stihli stanovit veškeré fyziologické parametry na alespoň čtyřech rostlinách z každé varianty.

- 1) Připravte si roztoky NaCl o koncentraci 0,9%, 1,8% a 3,5%
- 2) Z předpěstovaných rostlin kukuřice (neměly by být plně zality) vyberte 20 zdravých rostlin o podobné velikosti

- 3) Rostlinám náhodně přiřadte čísla od 1 do 20 a označte je štítkem s příslušným kódem
  - a. Rostliny seřadte do jedné řady
  - b. V předpřipravené excelovské tabulce přiřadte každé rostlině náhodné číslo pomocí funkce NÁHČÍSLO
  - c. Tyto hodnoty spolu s pořadím rostlin vykopírujte jako hodnoty do samostatných sloupců a seřadte od nejmenší po největší podle náhodně přiřazeného čísla (čísla je potřeba vložit jako hodnoty, protože náhodně generovaná čísla se při každém vstupu aktualizují)
  - d. Rostlinám přiřadte čísla dle tabulky
  - e. Rostliny 1-5 budou sloužit jako kontrolní rostliny (0mM; označte jako 0-1, 0-2...). Rostliny 6-10 budou vystaveny 15mM NaCl (označte jako 15-1, 15-2). Rostliny 11-15 budou vystaveny 30mM NaCl. Rostliny 16-20 budou vystaveny 60mM NaCl.
  - f. Pro odlišení jednotlivých variant využijte různobarevné štítky
- 4) U všech rostlin změřte výšku (vzdálenost mezi bází stonku a špičkou nejdelšího listu), průměr stonku na bázi a počet listů. Tyto hodnoty zapište do tabulky.
- 5) Pomocí gazometru změřte na jednom X-tém plně vyvinutém listu (doplňte de domluvy před měřením) z každé rostliny ustálené hodnoty rychlosti fotosyntézy (A), průduchové vodivosti (gs) a efektivity využití vody (WUE; poměr mezi rychlostí fotosyntézy a průduchovou vodivostí). Data vykopírujte do připravené tabulky.
- 6) Pomocí fluorometru změřte u každé z testovaných rostlin na X-tém plně vyvinutém listu (doplňte de domluvy před měřením) parametr Fv/Fm (QY v menu přístroje). Využijte předzatemňovací klipy. Doba předzatemnění je 5 min.
- 7) Rostliny umístěte v blocích do předpřipravených podnosů na stůl po LED panely. Rostliny v bloku by měly být umístěné náhodně – využijte náhodné pořadí vygenerovaných čísel přiřazených rostlinám, případně využijte pro rozmístění rostlin využijte design latinských čtverců.
- 8) Pomocí senzoru Theta Probe změřte u každé rostliny vlhkost substrátu před i po zalití jednotlivým ovlivňovacím roztokem, a zapište do tabulky. Podle kalibrační křivky výstupní hodnoty z Theta Probe převedte na hodnoty vodního potenciálu.
- 9) Rostliny zalijte vždy stejným množstvím roztoku (ideálně do nasycení substrátu). Množství potřebného roztoku otestujte na kontrolních rostlinách.
  - kontrolní variantu destilovanou vodou, 15mM variantu 0,9% roztokem NaCl, 30mM 1,8% roztokem NaCl, 60mM variantu 3,5% roztokem NaCl.
- 10) Mezi rostliny umístěte kombinovanou ústřednu pro záznam teploty, relativní vlhkosti vzduchu a radiace v průběhu experimentu. Časování záznamu dat nastavte na 5 min. Na konci experimentu data stáhněte a nakopírujte do tabulky.
- 11) Během týdne zkontrolujte stav rostlin (!vadnutí), v případě potřeby zalijte stejným množstvím vody – vždy už jen destilované. Stav rostlin vyfotit.
- 12) V pondělí zkontrolujte stav rostlin, v případě potřeby zalijte stejným množstvím vody. Rostliny by neměly být při měření zvadlé.

#### **Ukončení:**

Pozn. Zvolte pořadí rostlin během jejich zpracování tak, abyste během cvičení stihli stanovit veškeré fyziologické parametry na alespoň čtyřech rostlinách z každé varianty. 60mM varianta se bude hodnotit po dohodě (celkový vzhled, vadnutí).

- 1) Rostliny vyfoťte.
- 2) U všech rostlin změřte výšku (vzdálenost mezi bází stonku a špičkou nově se vyvíjejícího se listu), průměr stonku na bázi a počet listů. Tyto hodnoty запиšte do tabulky.
- 3) Pomocí senzoru Theta Probe změřte u každé rostliny vlhkost substrátu a запиšte do tabulky. Podle kalibrační křivky výstupní hodnoty z Theta Probe převedte na hodnoty vodního potenciálu
- 4) Rozvrhněte si jednotlivé listy dle vhodnosti k měření jednotlivými metodami!
- 5) Pomocí gazometru změřte na jednom X-tém plně vyvinutém listu (doplňte de domluvy před měřením) z každé rostliny ustálené hodnoty rychlosti fotosyntézy (A), průduchové vodivosti (gs) a efektivity využití vody (WUE; poměr mezi rychlostí fotosyntézy a průduchovou vodivostí). Data vykopírujte do připravené tabulky.
- 6) Pomocí fluorometru změřte u každé z testovaných rostlin na X-tém plně vyvinutém listu (doplňte de domluvy před měřením) parametr Fv/Fm (QY v menu přístroje). Využijte předzatemňovací klipy. Doba předzatemnění je 5 min.
- 7) Výluh z elektrolytů
  - a. Popište připravené zkumavky a do každé napipetujte 15 ml redestilované vody.
  - b. List určený k měření výluhů z elektrolytů oddělte a naskenujte.
  - c. Pomocí korkovrtu poté z tohoto listu odeberte přesně 20 disků a tyto přeneste do vody.
  - d. Zkumavky uzavřete, umístěte na třepačku a nechte protřepávat po dobu alespoň 20 hod. Ujistěte se, že všechny listové disky mají dobrý kontakt s vodou.
  - e. Po vyluhování změřte vodivost výluhu pomocí sondy.
  - f. Zkumavky překryjte alobalem a nechte autoklávovat po dobu 30 min při teplotě 121°C.
  - g. Po vychladnutí opětovně přeměřte vodivost výluhů a hodnoty zanepte do tabulky.
- 8) Stanovte rychlost respirace kořenů:
  - a. Oddělte nadzemní část rostliny a z půdy vyjměte kořenový systém.
  - b. Zbytky substrátu z kořenů opláchněte ve vodě.
  - c. Kořeny osušte a vložte do připravené baňky.
  - d. Na začátku měření stanovte referenční hodnotu koncentrace CO<sub>2</sub>.
  - e. Stanovte ustálenou hodnotu koncentrace CO<sub>2</sub> se vzorkem.
  - f. Po měření stanovte čerstvou hmotnost kořenů a spolu s průtokem vzduchu aparaturou a teplotou vodní lázně запиšte údaje do tabulky.
- 9) Stanovení biomasy:
  - a. Oddělte listy ze stonku a stanovte jejich čerstvou hmotnost. Pozor na načasování aby jednotlivé části rostlin mezitím nevysychali!!!
  - b. Stanovte listovou plochu pomocí skeneru.
  - c. Stanovte čerstvou hmotnost stonku.
  - d. Opatrně ze substrátu vyjměte celý kořenový systém. Přebytečný substrát opláchněte a kořeny osušte. Stanovte čerstvou hmotnost kořenového systému.
  - e. Veškeré orgány vložte zvlášť do popsaných sáčků a nechte sušit při 70°C do příštího cvičení, kdy stanovíte jejich suchou hmotnost.
- 10) Stáhněte data z kombinované ústředny a data nakopírujte do tabulky.