Zadanie

Pomiar zależności intensywności fotosyntezy netto od natężenia fotosyntetycznie aktywnej radiacji –PAR, za pomocą analizatora gazu w podczerwieni, wyznaczanie tzw. „krzywej świetlnej" fotosyntezy

Na podstawie źródeł:

Handbook of plant ecophysiology techniques ed. Manuel J. Reigosa Roger, chapter 8, Kluwer Academic Publisher, 2001

Plant Physiological Ecology, field methods and instrumentation, ed. R.W. Pearcy, J. Ehleringer, H.A. Mooney, P.W.Q. Rundel, chapter 11, Chapman and Hall, 1989

Przewodnik do ćwiczeń z fizjologii roślin pod red Z. Starck, Wydawnictwo SGGW, 1998

Opracowała dr Anna Dzierżyńska

Wstęp

Fotosynteza jest procesem metabolicznym w którym rośliny syntetyzują związki organiczne z nieorganicznych z wykorzystaniem energii świetlnej. Z dwutlenku węgla i wody powstaje najpierw fosfotrioza –aldehyd 3-fosfoglicerynowy, następnie cukier sześciowęglowy - glukoza a jako produkt uboczny wydzielany jest tlen. Fotosyntetycznie aktywna energia świetlna PAR jest zamieniana w tym procesie, dzięki barwnikom asymilacyjnym, w energię wiązań chemicznych glukozy i powstałych na jej bazie innych związków organicznych w roślinie.

Fotosynteza obejmuje przemiany materii i energii zachodzące w określonej kolejności w chloroplastach miękiszu liści w **dwóch podstawowych fazach**. W pierwszej **fazie fotochemicznej**, bezpośrednio zależnej od światła, barwniki asymilacyjne w tylakoidach chloroplastu absorbują promieniowanie PAR i przekazują energię do szeregu reakcji fotochemicznych, w wyniku których jest ona przejściowo zmagazynowana w formie związku wysokoenergetycznego ATP i zredukowanego nukleotydu $NADPH_2$. Związki te są wykorzystane **w fazie biochemicznej**, w której w odpowiednich warunkach termicznych następuje redukcja dwutlenku węgla do cukru w cyklicznych reakcjach enzymatycznych w stromie chloroplastu.

Procesy przepływu gazów pomiędzy liściem i otaczającą go atmosferą nazywa się **wymianą gazową** roślin. Dwutlenek węgla, stanowiący substrat procesu fotosyntezy, przenika do miękiszu liści i dalej do chloroplastów z otaczającej atmosfery przez aparaty szparkowe, znajdujące się w skórce liści. Warunkiem dyfuzji gazu do wnętrza liści jest różnica jego stężenia atmosferycznego i stężenia wewnątrz liścia oraz otwarcie aparatów szparkowych. Stan otwarcia szparek jest determinowany wieloma czynnikami zarówno związanymi ze stanem fizjologicznym rośliny jak i z warunkami środowiska. Podstawowym czynnikiem regulującym ruchy szparek jest woda, ponieważ są to ruchy turgorowe. Pamiętać trzeba, że otwarty aparat szparkowy stanowi jednocześnie główną drogę dyfuzji pary wodnej z liści do atmosfery w procesie transpiracji. Kierunki dyfuzji przez szparki CO_2 i H_2O podczas fotosyntezy są przeciwne. Wszystkie czynniki, modyfikujące stan otwarcia aparatów szparkowych mają wpływ na intensywność procesu fotosyntezy i transpiracji. Kierunek dyfuzji tlenu przez szparki jest zależny od gradientu stężeń tego gazu pomiędzy wnętrzem liścia i atmosferą zewnętrzną. Na świetle, tlen wydzielany w fazie fotochemicznej procesu fotosyntezy może dyfundować przez otwarte szparki do atmosfery, poprawiając jej bilans

tlenowy. Tlen potrzebny roślinom do procesu oddychania, dyfunduje do komórek przez całą powierzchnię rośliny.
Intensywność procesu fotosyntezy, oznaczana symbolem **F**, mierzona jest zwykle ilością pochłoniętego CO_2 (lub wydzielonego O_2) odniesioną do jednostki powierzchni liści i do jednostki czasu, wyrażonych w jednostkach układu SI –[µmole CO_2 m^{-2} s^{-1}].
Aktywność fotosyntetyczna organu lub rośliny oznacza ilość CO_2 związanego przez ten organ (liść) w jednostce czasu, dłuższej niż sekunda.
Ponieważ jednocześnie z pobieraniem CO_2 do fotosyntezy zachodzi wydzielanie CO_2 w procesie oddychania komórkowego i fotooddychania, większość metod pomiaru intensywności fotosyntezy uwzględnia **fotosyntezę netto** czyli pozorną - $\mathbf{F_n}$. Przedstawia ona całkowitą ilość pobranego do fotosyntezy CO_2 czyli F_b fotosyntezę brutto, inaczej rzeczywistą, pomniejszoną o ilość CO_2 wydzieloną w tym samym czasie w procesach oddechowych: oddychania komórkowego zwanego ciemniowym- R_d (dark respiration) i fotooddychania - R_l (light respiration) wg następującego równania:

$$F_n = F_b – (R_l + R_d)$$

Trudność techniczna pomiaru, zarówno w otwartym jak i zamkniętym systemie pomiarowym (patrz Zasada pomiaru analizatorem gazu w podczerwieni), wynikająca z bardzo zmiennego **natężenia światła** (zachmurzenie, zacienianie) podczas pomiaru w warunkach polowych, może być rozwiązana przez zastosowanie sztucznego źródła promieniowania PAR, o regulowanym natężeniu. Istotny jest wtedy rodzaj zastosowanego źródła światła, który zapewni odpowiedni do fotosyntezy skład spektralny emisji. Możliwe jest w tym przypadku badanie zależności intensywności Fn do natężenia promieniowania PAR i wykreślenie tzw. „**krzywej świetlnej fotosyntezy".**

Cel

Wyznaczenie zależności fotosyntezy netto (symbol Fn) rośliny o fotosyntezie typu C4 od stężenia CO_2 (symbol $[CO_2]$) w powietrzu atmosferycznym.

Materiał i metody

Materiał roślinny:
Siewki kukurydzy
Sprzęt:
Stacjonarny analizator gazu w podczerwieni, lampa LED z ciągłą regulacją oświetlenia lub filtry światła do lampy, zmniejszające natężenia PAR do podanego, oznaczonego poziomu.
Wykonanie:

- Wykonywać pomiar Fn (patrz instrukcja pomiaru analizatorem gazu w podczerwieni) na liściu siewki kukurydzy w jednakowym zakresie stężenie CO_2 (najlepiej 400-350 ppm) dla każdego natężenia światła, pozostawiając czas na adaptację do warunków aktualnego oświetlenia. Pomiar rozpoczyna się od najwyższej intensywności światła. W pełnej procedurze pomiar dla każdego poziomu natężenia promieniowania PAR powinien być powtarzany, do czasu uzyskania stałej wartości Fn.
- Obliczyć intensywność Fn dla danego PAR wg wzoru dla układu zamkniętego:

$$Fn = \frac{(c_p - c_k) \cdot V_N}{P_l \cdot t} \quad [\mu mole\ CO_2 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}]$$

Gdzie:

c_p – stężenie CO_2 w układzie zamkniętym na początku pomiaru [mol CO_2 · mol^{-1} powietrza w układzie]

c_k – stężenie CO_2 w układzie zamkniętym na końcu pomiaru

V_N –objętość molowa powietrza w układzie, wyliczona na podstawie objętości gazu w układzie i objętości mola gazu doskonałego [mol]

P_l – powierzchnia liścia zamknięta w kamerze pomiarowej [m^2]

t – czas pomiaru zmiany stężenia CO_2 w układzie od c_p do c_k [s]

Wielkości V_N i P_l zostaną podane prze prowadzącego ćwiczenia.

- Po oznaczeniu Fn na pierwszym poziomie PAR zmniejszyć natężenie PAR do drugiego badanego poziomu (używając odpowiedniego filtru lub ciągłej regulacji natężenia oświetlania lampy pomiarowej LED i dokonać kolejnego pomiaru Fn.
- Zestawić wyniki w tabeli oraz przedstawić na wykresie zależność Fn od [CO_2]. Pamiętać o właściwym oznaczeniu jego osi.

Natężenie promieniowania PAR [µmole PAR m^{-2} s^{-1}]	*Czas pomiaru zmiany stężenia CO_2 z 400 do 350ppm* [s]	*Intensywność Fn przy danym PAR* [µmole CO_2 m^{-2} s^{-1}]
1500		
1000		

- Przeanalizować przebieg wykreślonej krzywej i wyciągnąć wnioski.