

Zadání úlohy:

Stanovení efektivního kvantového výtěžku fluorescence (Φ_{II}) jako indikátoru tepelného stresu

Efektivní kvantový výtěžek fotochemických procesů Φ_{II} se definuje jako podíl variabilní (F_v') a maximální fluorescence (F_M'). Variabilní fluorescenci rozumíme okamžitou hodnotu fluorescence zmenšenou o rovnovážnou úroveň fluorescence naměřené u na světlo adaptovaném vzorku (F_S). Pro výpočet používáme hodnotu okamžité fluorescence dosaženou krátce po náhlém ozáření na světlo adaptované rostliny (F_M') dostatečně silným světelným pulzem, který způsobí uzavření všech RC PS II, zahlcení fotochemické deexcitační cesty (veškerý plastochinon v redukovaném stavu), a tudíž prudký nárůst fluorescence na maximální hodnotu F_M' . V tomto stavu jsou všechna RC PS II „uzavřena“ a nepřijímají další excitační energii. Variabilní fluorescence se stanoví jako $F_M' - F_S$ a efektivní kvantový výtěžek podle vzorce:

$$F_v'/F_M' = (F_M' - F_S) / F_M'$$

Rovnovážná fluorescence F_S se zjišťuje ozářením na světlo adaptované rostliny velmi nízkou hodnotou záření, při které dochází k excitaci molekul chlorofylu PS II, avšak neuskutečňuje se další přenos této energie na QA. F_S proto představuje fluorescenci charakterizující běh fotochemických procesů na thylakoidních membránách při dané ozářenosti.

Efektivní kvantový výtěžek Φ_{II} je jedním z obecných indikátorů popisujících aktuální rychlost (efektivitu) fotochemických procesů na thylakoidní membráně charakteristických pro danou úroveň ozářenosti. Snížení jeho úrovně znamená negativní ovlivnění fotosyntetických reakcí v chloroplastech.

Dobře prostudovaným stresem, jehož důsledkem je snížení hodnoty Φ_{II} je působení tepelného stresu na rostliny.

Rostlinný materiál:

Postup měření:

- (1) Zapněte fluorometr PAM-210 a počkejte na ukončení úvodních testů (cca 30s).
- (2) V nabídce na displeji fluorometru nastavte intenzity použitých typů světla (opakovaným mačkáním tlačítka „I“ na klávesnici fluorometru:
ML - měřící světlo, AL - aktinické světlo, FR - vzdálené červené záření, SP - saturační pulz
ML = 8, AL = 3, FR = *nenastavuje se*, SP = 10 (tj. maximální hodnota)
- (3) Zapněte aktinické světlo AL. Na displeji fluorometru bliká symbol „A“ za symbolem g v závorce, tj. „g (HA)“.
- (4) Vložte experimentální list na měřící bod přístroje a přiložte z vrchu magnetickou krytku.
- (5) Ponechte experimentální list takto po dobu 3 minut (aklimace).
- (6) Po uplynutí doby vymáčkněte na klávesnici fluorometru tlačítko SP
- (7) Na displeji přístroje odečtěte hodnotu F_S , F_M' , Φ_{II} a zanepte do tabulky.
List nechte stát při lab. teplotě 5 min.
- (8) Experimentální list vložte do sušárny a vystavte po dobu 5 min teplotě 40 °C.
- (9) Experimentální list vyjměte a opakujte měření v krocích 4-7.
- (10) Opakovaně vložte list do vysoušecí pícky a vystavte po dobu 5 min teplotě 40 °C.
- (11) Experimentální list vyjměte a opakujte měření v krocích 4-7.
- (12) Vzorek pak nechte volně při laboratorní teplotě a ozářenosti a v 10-ti minutovém intervalu po dobu 30 minut měřte zotavení (recovery) fotochemie po tepelném šoku.
- (14) Vytvořte sloupcový graf F_S , F_M' , Φ_{II} v jednom grafu pro kontrolní měření, pro první, druhé tepelné ovlivnění a zotavení.
- (15) Formulujte závěr o vlivu tepelného stresu na parametry fluorescence chlorofylu, porovnejte hodnoty získané po 1. a 2. ovlivnění vysokou teplotou (40 °C) a proveďte

také mezidruhové srovnání. Bylo tepelné ovlivnění rostlin ireverzibilní?

	F_S	F_M'	Φ_{II}
Před ovlivněním			
I. ovliv. 40°C 5 min			
II ovliv. 40°C 5 min.			
10 min. zotavení			
20 min. zotavení			
30 min. zotavení			

Aktualní fluorescence

Φ_{II}

ozáření

F 0234	Y.45	0124
g(L)	1234	2345
Stav	F_S	F_M'